

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 14 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19666

研究課題名(和文) 胎児心疾患における胎児心不全時の胎盤形態機能変化及び予知マーカー開発に関する研究

研究課題名(英文) Morphological and functional change of placenta and predictive biomarker for heart failure in fetus with congenital heart disease

研究代表者

三好 剛一 (Miyoshi, Takekazu)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・医師

研究者番号：70626697

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、胎児先天性心疾患における胎児心不全時の胎児-胎盤-母体間の病態変化を横断的に解析した。臍帯血及び新生児血中ナトリウム利尿ペプチドは心不全病態で上昇し、胎児超音波検査による心不全の重症度と良好な相関を示した。羊水中では、NT-pro BNPが胎児心不全の重症度と相関を認め、バイオマーカーとしての臨床応用の可能性が示唆された。胎盤では、胎児心不全の重症化に応じて異型絨毛、水腫様変性、線維化などの特異的な変化を呈し、胎児心不全に伴う変性的変化や代償性変化が示唆された。胎児心不全時の母体血中マーカーとして、sFASL、TGF- β 1が候補分子として同定された。

研究成果の概要(英文)：In this study, the pathological changes of fetus, placenta and mother for fetal heart failure in fetus with congenital heart disease were cross-sectionally analyzed. Plasma natriuretic peptide levels in fetuses with congenital heart defects, arrhythmias, or both were correlated with the severity of fetal heart failure. In amniotic fluid, NT-pro BNP levels in fetuses with congenital heart defects, arrhythmias, or both were correlated with the severity of fetal heart failure, suggesting the possibility of clinical application as a biomarker. According to the severity of fetal heart failure, specific changes were found in the placental villi such as dysplasia, edematous degeneration and fibrosis, suggesting the degenerative and compensatory response secondary to fetal-placental hemodynamic change. Soluble FASL and TGF- β 1 were identified as candidate molecules as maternal blood biomarkers for fetal heart failure.

研究分野：胎児心不全

キーワード：胎児心不全 マーカー 心疾患 不整脈 胎児治療 出生前診断 超音波検査 ナトリウム利尿ペプチド バイオ

1. 研究開始当初の背景

(1) 胎児先天性心疾患における胎児心機能評価法

近年、胎児水腫（胎児心不全）における胎児心機能評価法の一つとして、Huhta により提唱された Cardiovascular profile (CVP) score が現在臨床現場で用いられるようになってきている（Huhta JC, Semi Fetal Neonatal Med, 2005）。胎児超音波検査により、5つの項目をスコアリングし胎児心不全の重症度を推測するものであるが、胎児先天性心疾患における有用性はまだ十分には示されていない。また、胎児超音波検査では検者の技能による差もあることから、より客観的な胎児心機能評価法が求められる。

(2) 臍帯血、新生児血及び羊水中におけるナトリウム利尿ペプチドの臨床的意義

ANP（心房性ナトリウム利尿ペプチド）は急性心不全治療薬また心不全マーカーとして、BNP（脳性ナトリウム利尿ペプチド）は心不全マーカーとして、小児・成人領域では広く臨床応用されている。最近、心不全時の前駆体プロセシング異常に伴う血中での前駆体/成熟体の分子型比率の変化が注目されている（Nishikimi T, Heart 2010）。周産期領域では、胎児発育不全症例を中心に胎児超音波所見と分娩時の臍帯血中ナトリウム利尿ペプチド濃度について幾つか報告があり、胎児発育不全や胎児仮死において高値を示している。一方、胎児先天性心疾患における臍帯血、新生児血及び羊水中のナトリウム利尿ペプチドの意義については、これまでほとんど明らかにされていない。

(3) 母体血漿中へ流入する胎児胎盤由来 RNA

母体の血漿中に流入している胎児胎盤由来の cell-free DNA は妊娠7週ごろから検出されることが明らかになり、近年では NIPT（無侵襲的出生前遺伝学的検査）として 21trisomy をはじめとした染色体異常の出生前診断に臨床応用されている。一方、母体血漿中への胎児胎盤由来 cell-free RNA の流入量は、妊娠高血圧症候群、癒着胎盤、双胎間輸血症候群などの妊娠合併症と関連していることが報告され、その定量化は胎盤形成異常と関連する妊娠合併症を予測する新しい分子マーカーとして注目されている（Masuzaki H, Clin Chem 2005）。胎児先天性心疾患及び胎児心不全に関する cell-free RNA の検討は報告されていない。今後、マイクロアレイ技術を用いた母体血漿中 cell-free RNA の網羅的な解析により、胎児胎盤機能の推定が可能になるものと期待される。

2. 研究の目的

胎児心疾患の周産期管理において胎児心不全の診断及び発症予測は最重要課題の一つである。本研究は、胎児心疾患における胎

児心不全の病態の解明及びバイオマーカーの開発を目的とする。

(1) 胎児心不全診断は主に胎児超音波検査によって行われているが、その客観的な評価法は未だ確立していない。臍帯血、新生児血及び羊水中のナトリウム利尿ペプチドと胎児心不全の重症度との関連を病態別に解析することで、胎児心不全診断マーカーとしての意義を明らかにする。

(2) 胎児心不全の胎盤における組織学的変化を、胎児心疾患の病態別に解析し、さらに胎盤の遺伝子発現変化を網羅的に解析することにより、胎児心不全の発症機序や病因診断に対する客観的評価法を確立する。

(3) 胎児心不全時に母体血漿中へ流入する胎児胎盤由来 RNA 及び蛋白分子を網羅的に検索することにより、胎児心不全の新しい診断マーカーの開発を目指す。

3. 研究の方法

胎児先天性心疾患における臍帯血及び新生児血中ナトリウム利尿ペプチドの胎児心機能評価法としての意義、胎児心不全時における胎盤形態機能の変化に関して、さらに症例を集積しながら検討する。胎児心不全症例における胎盤臍帯の遺伝子発現変化を網羅的に検索することにより、特異的な遺伝子発現変化を同定し、母体血中バイオマーカーの開発へと進めていく。

(1) 胎児心疾患病態別の臍帯血、新生児血及び羊水中のナトリウム利尿ペプチドの意義

胎児超音波検査の心不全評価法である CVP score とナトリウム利尿ペプチドとの相関性を検討する。

心形態異常及び不整脈のタイプとナトリウム利尿ペプチドとの相関性を検討する。

(2) 胎児心不全時の胎盤臍帯における形態学的変化及び遺伝子発現変化の検討

胎児心不全に伴う胎盤臍帯の組織学的な変化を検索し、胎児心不全の病態や重症度との相関性を検討する。

胎児心不全症例の胎盤において DNA マイクロアレイを用いて網羅的な遺伝子発現解析を行う。

(3) 胎児心不全時に母体血漿中へ流入する特異的な胎盤由来 cell-free RNA や蛋白分子の検索

当センターバイオバンクに保存されている妊娠中期・後期の母体血を用いて、胎児心不全時に特異的に変化するバイオマーカーを網羅的に検索する。

4. 研究成果

(1) 胎児心疾患病態別の臍帯血、新生児血及び羊水のナトリウム利尿ペプチドの意義

臍帯血及び新生児血中ナトリウム利尿ペプチドは心不全病態で有意に上昇しており、胎児超音波検査による心不全スコアの重症度と良好な相関を示した(図1)。心形態異常と不整脈の層別化解析でも同様の結果であった。心形態異常そのものではなく、形態異常に伴う房室弁逆流や不整脈による壁応力の増大によって、ナトリウム利尿ペプチドの産生が亢進すると考えられた。

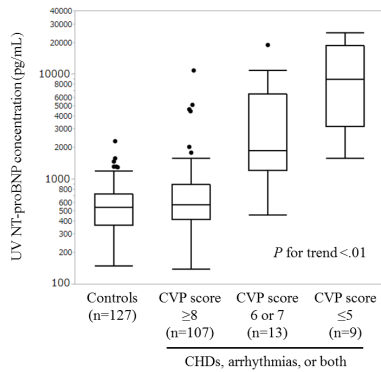


図1 胎児心不全と血漿中ナトリウム利尿ペプチド

胎児頻脈性不整脈ではBNPの上昇が特徴的で、胎児治療により正常と同等にまで低下したことから、不整脈治療中の心機能障害診断に有用と考えられた(図2)。

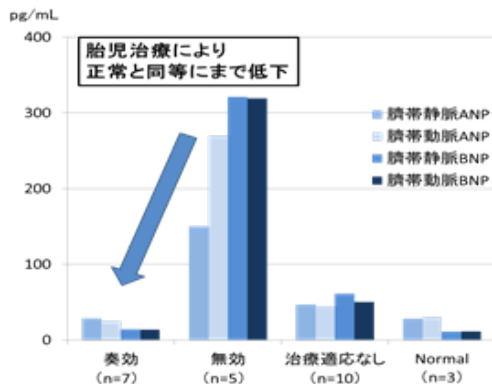


図2 胎児不整脈と血漿中ナトリウム利尿ペプチド

羊水中では、NT-pro BNPが胎児心不全の重症度と相関を認め、胎児心機能を反映する即時的なバイオマーカーとしての臨床応用の可能性が示唆された。

(2) 胎児心不全時の胎盤臍帯における形態学的変化及び遺伝子発現変化の検討

異型絨毛、高度の浮腫、絨毛の線維化、有核赤血球が、より重症の胎児心不全の胎盤で観察された(図3)。これらの変化は、心疾患のタイプではなく、胎児心不全の重症度と関連しており、胎児心不全に伴う二次的な変化が示唆された。

胎児心不全時の胎盤におけるマイクロアレイ解析で、特異的な変化を示した遺伝子を以下に示す(表1)。現在、パスウェイ解析を実施中である。

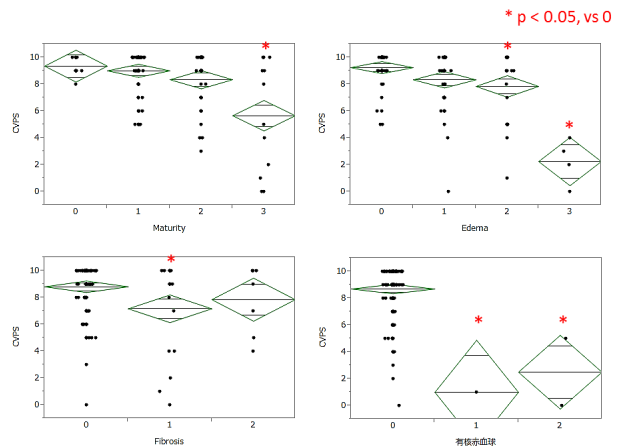


図3 胎児心不全と胎盤の組織学的異常所見

表1 胎児心不全時の胎盤マイクロアレイ解析結果

KRT38 (keratin 38)
APOC3 (apolipoprotein C-III)
ERBB4 (v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 4)
SERPINB3 (serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3)
GRIN2B (glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 2B)
ACE (angiotensin I converting enzyme)
CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)
AUTS2 (autism susceptibility candidate 2)
NXPH1 (neurexophilin 1)
CYP4Z1 (cytochrome P450, family 4, subfamily Z, polypeptide 1)
HSBP1 (heat shock factor binding protein 1)
MCHR1 (melanin-concentrating hormone receptor 1)
UNC45B (unc-45 homolog B (C. elegans))
VGLL2 (vestigial-like family member 2)
HKDC1 (hexokinase domain containing 1)
LRRC74 (leucine rich repeat containing 74)
SLC24A2 (solute carrier family 24 (sodium/potassium/calcium exchanger), member 2)
OR2M2 (olfactory receptor, family 2, subfamily M, member 2)
OR5H15 (olfactory receptor, family 5, subfamily H, member 15)
TAP2 (transporter 2, ATP-binding cassette, sub-family B)
DEFA6 (defensin, alpha 6, Paneth cell-specific)
MYO3B (myosin IIIB)
ARPP21 (cAMP-regulated phosphoprotein, 21kDa)

(3) 胎児心不全時に母体血漿中へ流入する特異的な胎盤由来 cell-free RNA や蛋白分子の検索

胎児心疾患 50 例、正常コントロール 50 例における妊娠中期・後期の母体血清を用いて、サイトカイン類及びホルモン類、計 70 項目を網羅的に探索した。胎児心不全時、胎児不整脈出現時に母体血中で変化するマーカーとして、sFASL、TGF- α が同定された(図4)。今後、胎児頻脈性不整脈の胎児治療中における経時的な変化を検証していく予定である。

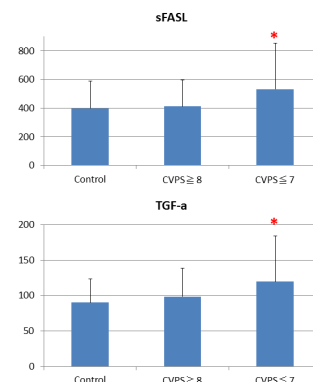


図4 胎児心不全時の母体血漿中マーカー

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計8件)

Ide T, Miyoshi T, et al. Fetal Echocardiographic Findings in Right Pulmonary Artery to Left Atrium Communication: A Case Report and Review of the Literature. J Matern Fetal Neonatal Med. 2017 [Epub ahead of print] 査読有 doi: 10.1080/14767058.

Miyoshi T, Katsuragi S, et al. Cardiovascular profile score as a predictor of acute intrapartum non-reassuring fetal status in infants with congenital heart defects. J Matern Fetal Neonatal Med. 2016 [Epub ahead of print] 査読有 doi: 10.1080/14767058.

三好剛一. 胎児先天性心疾患における予後予測因子に関する検討 - Cardiovascular profile score の有用性 - . 周産期学シンポジウム抄録集, 34:41-44, 2016 査読有

Miyoshi T, Sakaguchi H, et al. Novel findings of fetal ectopic atrial tachycardia by cardiotocography. Ultrasound Obstet Gynecol. 2015;46(5):629-30. 査読有 doi: 10.1002/uog.14797.

Miyoshi T, Maeno Y, et al. Fetal bradyarrhythmia associated with congenital heart defects - nationwide survey in Japan. Circ J. 2015;79(4):854-61. 査読有 doi: 10.1253/circj.CJ-14-0978.

Ide T, Miyoshi T, et al. Fetal critical aortic stenosis with natural improvement of hydrops fetalis due to spontaneous relief of severe restrictive atrial communication. J Obstet Gynaecol Res. 2015;41(7):1137-40. 査読有 doi: 10.1111/jog.12681.

Kobayashi Y, Miyoshi T, et al. Mirror syndrome associated with fetal transient abnormal myelopoiesis in Down syndrome. Pathol Int. 2015;65(8):443-5. doi: 10.1111/pin.12291. 査読有

丸岡寛, 三好剛一, 他. 胎児診断された期外収縮の自然歴. 日本周産期・新生児医学会雑誌, 51(1): 262-6, 2015 査読有

〔学会発表〕(計9件)

三好剛一, 梅川孝, 他. 胎児先天性心疾患及び不整脈における臍帯血中ナトリウム利尿ペプチドについての検討: 単施設前向き観察研究. 第69回日本産科婦人科学会学術講演会 4.14-16/2017 広島

三好剛一. 胎児先天性心疾患における予後予測因子に関する検討 - Cardiovascular profile score の有用性 - . 日本周産期・新生児医学会第34回周産期学シンポジウム

2.5-6/2016 神戸

三好剛一, 細田洋司, 他. 胎児心疾患における血中バイオマーカーに基づく Cardiovascular profile score の再評価. 第22回日本胎児心臓病学会学術集会 2.19-20/2016 東京

三好剛一, 前野泰樹, 他. 胎児頻脈性不整脈に対する経胎盤的抗不整脈薬投与の臨床試験 - 副作用報告(第2報) - . 第22回日本胎児心臓病学会学術集会 2.19-20/2016 東京

三好剛一, 梅川孝, 他. 胎児先天性心疾患における臍帯血及び新生児血中ナトリウム利尿ペプチドについての検討. 第68回日本産科婦人科学会学術講演会 4.21-24/2016 東京

三好剛一, 根木玲子, 他. 胎児不整脈の早期発見のための超音波診断の役割. 第89回日本超音波医学会 5.27-29/2016 京都

三好剛一, 根木玲子, 他. 胎児先天性心疾患において羊水中 NT-pro BNP は胎児心不全の重症度を反映する. 第89回日本超音波医学会 5.27-29/2016 京都

三好剛一. 胎児頻脈性不整脈の経胎盤治療. 第52回日本小児循環器学会 7.6-8/2016 東京

三好剛一, 前野泰樹, 他. 胎児頻脈性不整脈に対する経胎盤的抗不整脈薬投与の臨床試験 - 副作用報告(第2報) - . 第52回日本周産期・新生児医学会学術集会 7.16-18/2016 富山

〔図書〕(計11件)

Miyoshi T. Fetal arrhythmia. Maternal and Fetal Cardiovascular Disease. Ikeda T & Kamiya C Eds. Springer Japan. 2017 in press

Miyoshi T. Fetal sinus bradycardia. Sinus Bradycardia: Signs and Symptoms, Clinical Management and Long-Term Prognosis. NOVA. 2017 in press

三好剛一. 注目の Topics: 心磁図による胎児不整脈の出生前診断 周産期管理における胎児心磁図の役割. Fetal & Neonatal Medicine メディカルレビュー, 2017

三好剛一. 各論5 胎児不整脈 2. 完全房室ブロック. ガイドラインに基づく胎児心エコーテキスト 精査・臨床編, 稲村昇編, 金芳堂, 2017

三好剛一. 各論5 胎児不整脈 4. 頻拍性不整脈. ガイドラインに基づく胎児心エコーテキスト 精査・臨床編, 稲村昇編, 金芳堂, 2017

三好剛一. 特集 胎児診断・治療の最前線 胎児頻脈性および徐脈性不整脈の胎児治療. 周産期医学, 47(4), 2017

三好剛一. 産婦人科画像診断トレーニング この所見をどう読むか? 胎児不整脈を認めたら? 臨床婦人科産科, 71(4), 2017

三好剛一. 特集 周産期領域の新しい検

査法 心磁図による胎児不整脈の診断. 周産期医学,46(6):727-9, 2016

三好剛一. 胎児心拍数モニタリング“先読み”判読ドリル 胎児心疾患の胎児心拍数波形. ペリネイタルケア メディカ出版,35(6):19-24, 2016

三好剛一. 21 産婦人科疾患 胎児水腫. 今日の治療指針 2015 年版, 医学書院: 1245, 2015

三好剛一. 胎児超音波検査で胎児不整脈を認めます. どのように管理したらよいでしょうか? 産科診療 Q&A 一つ上を行く診療の実践 板倉敦夫編, 中外医学社: 47-50, 2015

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

日本胎児治療グループ

<http://fetusjapan.jp/>

国立循環器病研究センター研究所 再生医療部

http://www.ncvc.go.jp/res/divisions/regenerative_medicine/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三好 剛一 (MIYOSHI TAKEKAZU)

国立循環器病研究センター・周産期・婦人科部・医師

研究者番号: 70626697

(2) 研究協力者

南野 直人 (MINAMINO NAOTO)

国立循環器病研究センター・創薬オミックスセンター・センター長

細田 洋司 (HOSODA HIROSHI)

国立循環器病研究センター・再生医療部・室長

宮里 幹也 (MIYAZATO MIKIYA)

国立循環器病研究センター・生化学部・部長

白石 公 (SHIRAIISHI ISAO)

国立循環器病研究センター・教育推進部・部長

黒崎 健一 (KUROSAKI KENICHI)

国立循環器病研究センター・小児循環器部・部長

植田 初江 (UEDA HATSUE)

国立循環器病研究センター・病理部・部長

松山 高明 (MATSUYAMA TAKAAKI)

国立循環器病研究センター・病理部・医師

吉松 淳 (YOSHIMATSU JUN)

国立循環器病研究センター・周産期・婦人科部・部長

寒川 賢治 (KANGAWA KENJI)

国立循環器病研究センター・研究所長