

令和元年6月13日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11079

研究課題名(和文)胎児心電図装置を応用した胎児脳機能発達異常検出法の開発

研究課題名(英文)Attempt new detection of embryonic neurodevelopment abnormalities by fetal electrocardiography

研究代表者

西郡 秀和 (NISHIGORI, Hidekazu)

東北大学・大学病院・准教授

研究者番号：40453310

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：有精卵の実験において、交感神経活性の指標である低周波数成分/高周波数成分(LF/HF)の比は、コントロール群と比較して甲状腺機能低下モデル：メチマゾール投与群は、有意に低下した。一方、母体ストレスモデル：グルココルチゾール群は、有意差はなかった。マウスの実験では、バルプロ酸群の胎仔は、LF/HFの比が有意に低下した。CAGE法を用いて、脳のmRNA発現レベルの検討を行った。コントロール群と比較し、各群は、数十種類の増減するmRNAを認めた。ヒトを対象とした検討では、甲状腺疾患、抗てんかん薬服用群および精神神経疾患合併妊婦を対象に胎児心電図測定の実験を行った。現在、これらの解析を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有精卵とマウスを用いた動物実験から、甲状腺機能異常やバルプロ酸の影響を受けた(自閉症モデル)胎児の発達異常を、胎児心電図を用いて早期に発見できる可能性を示した。このことは、今後、甲状腺機能低下症や自閉症の胎児を早期に発見することで、胎内での環境を改善して、神経発達障害の発症リスクの低下、あるいは障害の程度の軽減に向けたヒトへの臨床応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：In fertile hen's egg-embryo-chick system, the ratio of low frequency area/high frequency area (LF/HF), which is an indicator of sympathetic nerve activity, was significantly decreased in the hypothyroid model (methimazole group) compared with the control group. On the other hand, there was no significant difference in the mother stress model (glucocorticoid group). In a mouse experiment, the LF/HF ratio was significantly decreased in fetuses of the valproic acid group. We examined the level of brain mRNA expression by using CAGE. Dozens of kinds of increasing and decreasing mRNAs were found in each group compared with the control group. In a human study, we analyzed measurements of fetal electrocardiography in thyroid diseases, the antiepileptic drug group, and pregnant women complicated with neuropsychiatric disorders. Currently, we are analyzing them.

研究分野：周産期医学

キーワード：胎児心電図 有精卵 マウス 神経発達異常

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) 超音波検査や胎児心拍数陣痛図などを用い、胎児の脳形態・血流異常や胎児機能不全の診断が行われているが、脳機能発達異常の診断には限界がある。したがって、新たな診療手段として、我々の開発した胎児心電図を応用し、胎児の脳機能発達異常と関連する心電図波形の特徴を捉えて、先制医療を目指した臨床応用方法を開発する必要がある。
- (2) 研究代表者らは、疑似子宮ともいえる「受精鶏卵 鶏胚 ヒヨコ系」動物実験モデルを確立した。受精鶏卵モデルの利点は母体の影響を受けずに簡易に曝露を行い検討できる利点があり、ある種の人工子宮モデルともいえる。

2. 研究の目的

我々が世界に先駆けて開発した胎児心電図計測装置を応用した、胎児の脳機能発達異常の早期発見、および脳機能発達異常の改善を目指した胎児期からの先制医療の可能性を探る。

- (1) 臨床研究において、胎児を対象にした胎児心電図検査を行い、脳機能発達異常と関連する心電図波形の特徴を検出する。
- (2) 基礎研究において、受精鶏卵とマウスモデルを用いて脳機能発達異常と関連する心電図波形の検出および分子レベルの病態解析を行う。
- (3) 臨床と基礎研究から得られた心電図波形の特徴の相関性を検証し、基礎研究を通して子どもの脳機能発達異常の改善を目指した胎児期からの先制医療の開発を目指す。

3. 研究の方法

- (1) 有精卵を用いた胎児心電図研究の試みを行った。先行研究より、孵卵齢 14 日に Methimazole を投与する条件が至適であることから、外表形態異常率が上昇せず、孵化率が 80% 以上となる条件を検討した。

薬剤の投与時期と量を条件

- 外表形態異常率が上昇せず
- 孵化率が80%以上となる

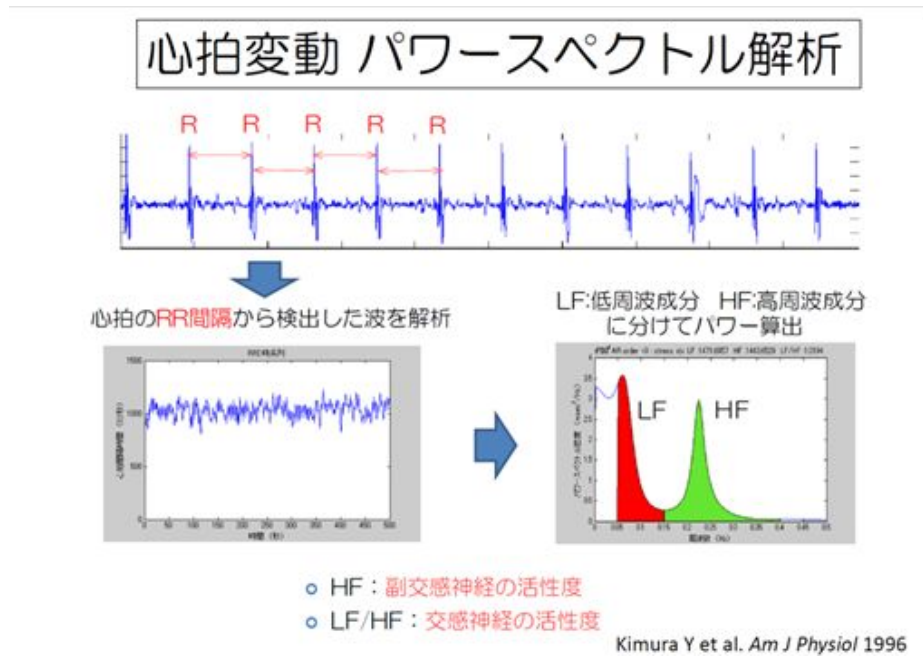
卵齢14日投与
(ヒト2nd~3rd trimester)



- (2) Comprehensive analysis of gene expression (CAGE) 法を用いて、mRNA の発現レベルの検討を行った。

- (3) 胎児心電図を用いた実験の一環として、マウスの実験を試みた。

- (4) 心電図測定結果を、Matlab を使用し、パワースペクトル解析を用いて検討した。



- (5) comprehensive analysis of gene expression(CAGE)法を用いて、mRNA の発現レベルの検討を行った。

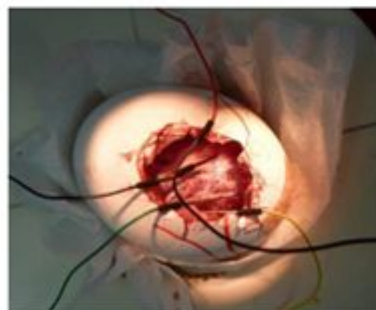
- (6) (ヒトを対象とした検討では、甲状腺疾患群、抗てんかん薬服用群および精神神経疾患群を対象に胎児心電図測定の解析を行った。

4. 研究成果

- (1) Methimazole を 20umol、15umol、10umol をそれぞれ受精鶏卵 1 個あたりに投与した。孵化率は Methimazole 20umol 投与群：約 30%、15umol 投与群：約 30%、10umol 投与群：約 90%であった。孵化時期はコントロール群に比較して、Methimazole 20umol 投与群、15umol 投与群、10umol 投与群は約 3 日遅れた。
- (2) 鶏胚の心電図を孵卵齢 15 日と 19 日に計測して、それぞれ直接誘導にて心電図波形を測定することに成功した。

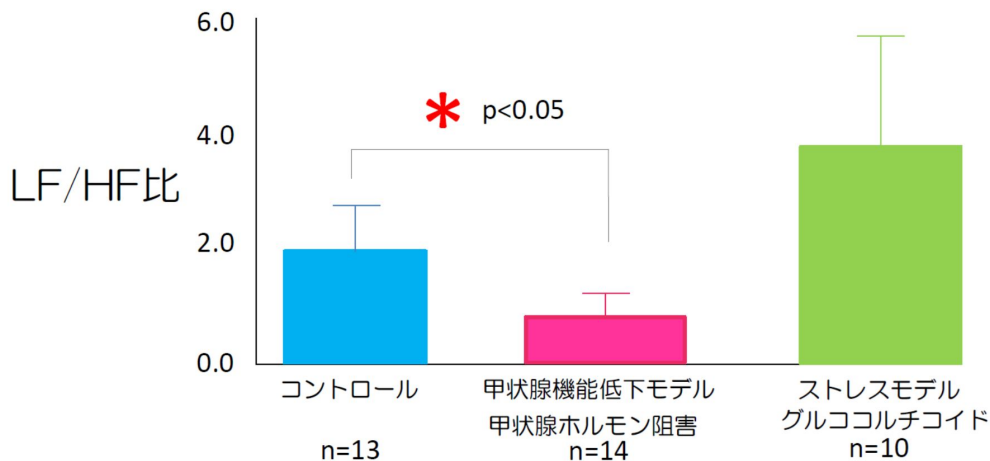
受精鶏卵 鶏胚の心電図測定

卵齢19日測定



- (3) 卵齢 19 日に鶏胚の心電図を測定した。心電図測定結果を、Matlab を使用し、パワースペクトル解析を用いて検討した。卵齢 19 日目の低周波数成分/高周波数成分の比は、コントロール群 (13 個) と比較して甲状腺機能低下モデルともいえるメチマゾール 20 μ L/個投与群 (14 個) は、コントロール群と比較して有意に低下した。低周波数成分/高周波数成分の比は、交感神経活性の指標である。このことは、ヒト・胎児心電図に応用した場合、甲状腺機能低下の胎児を早期に発見できる可能性を示している。一方、母体ストレスモデルともいえるグルココルチコイド (ベタメサゾン) 投与群 (10 個) では有意差はなかった。

交感神経の活性度



- (4) マウスを用いた実験。胎児心電図を用いた実験の一環として、バルプロ酸投与群について、マウスの実験を行った。バルプロ酸投与されたマウスモデルは、ヒトの自閉症スペクトラムのモデルとして報告されている。胎齢 12.5 日に 600mg/kg で妊娠マウスにバルプロ酸を投与、胎齢 18.5 日に胎児心電図を計測した。コントロール群 (9 匹) に比較し、バルプロ酸群 (10 匹) の胎児は、低周波数成分/高周波数成分の比が有意に低下した。
- (5) 鶏胚の脳について comprehensive analysis of gene expression (CAGE) 法を用いて、mRNA の発現レベルの検討を行うため、卵齢 14 コントロール群、メチマゾール 20 μ L/個投与群、バルプロ酸 35 μ mol/個投与群を作成した。卵齢 19 日に、それぞれ 3 羽ずつ、大脳、小脳、脳幹、視葉に分けて摘出、RNA 抽出して、CAGE 法解析を行った。コントロール群と比較し、メチマゾール群とバルプロ酸群それぞれ、数十種類の増減する mRNA を認めた。
- (6) バルプロ酸投与されたマウスモデル/マウス胎児の脳の、CAGE 解析も行った。コントロール群と比較し、数十種類の増減する mRNA を認めた。
- (7) ヒトを対象とした検討では、甲状腺疾患群 10 組、抗てんかん薬服用群および精神神経疾患 16 組を対象に胎児心電図測定の解析を行った。胎児は動くため、心電図波形は腹壁信号を取る場所によって変わるので、ch を切り替えて ch15 から ch24 まで測定ができる設定だが、胎児心電図波形の R 波のピークを正しく検出したものは、甲状腺群は 10 件中 5 件で、抗てんかん薬服用群および精神神経疾患 10 件中 5 件であった。現在、その結果を解析中である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

A comparison study on safety and efficacy of maternal abdominal-lead fetal ECG under regulatory science.

Oshio S, Kimura Y, Nishigori H, Sato N, Minato T, Khandoker AH, Owada K, Sudo K, Odagiri N, Yaegashi N.

Advances in Clinical and Translational Research 2018年 査読有

電子版

<https://www.semanticscholar.org/paper/A-Comparison-Study-on-Safety-and-Efficacy-of-Fetal-Oshio-Kimura/031e64d418bc9467c85a4ff606f65b78bec5e032>

〔学会発表〕(計1件)

シンポジウム 生殖・周産期分野の前方視的研究から得られた最新の知見と先制医療への展望；胎児の発達に影響を与える環境要因と病態の解明 周産期メンタルヘルスに着目して
西郡 秀和

第70回日本産科婦人科学会学術講演会 2018年5月12日

〔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〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：木村 芳孝

ローマ字氏名：(KIMURA, Yoshitaka)

所属研究機関名：東北大学

部局名：医学系研究科

職名：教授

研究者番号(8桁): 40261622

研究分担者氏名：大塩 清佳

ローマ字氏名：(OSHIO, Sayaka)

所属研究機関名：東北大学

部局名：大学病院

職名：特任助手

研究者番号(8桁): 00769739

(2)研究協力者

研究協力者氏名：伊藤 拓哉

ローマ字氏名：(ITO, Takuya)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。