

令和元年6月17日現在

機関番号：33920

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19697

研究課題名(和文) トロンボポエチンに注目した新生児血小板減少症の機序解明とその新規治療法

研究課題名(英文) Mechanism of neonatal thrombocytopenia focusing on thrombopoietin and its novel treatment

研究代表者

竹下 覚 (Takeshita, Satoru)

愛知医科大学・医学部・助教

研究者番号：20715875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠週数に比較して低体重であるSGA児における出生早期の血小板減少の原因は不明であった。本研究では血小板造血に関与するトロンボポエチンに着目して早産児と正期産児、SGA児と非SGA児に分類して病態の解明に迫った。SGA児ではトロンボポエチンの上昇がみられず、その関与が示唆された。同時にSGA児のモデルラットを用いた実験を行うため、モデルラットの作成を行った。研究成果は関連学会の学術集会で発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

早期新生児における血小板減少症の原因は、多くが不明であり血小板輸血など対症療法にとどまっている。原因を明らかにすることで輸血に依存しない新たな治療薬の開発につながる。輸血の代替治療の研究は、医療社会資源の限られた現代において有益であると考えている。

研究成果の概要(英文)：The cause of early birth thrombocytopenia in Small-for-Gestational Age (SGA) infant was unknown. In this study, we focused on thrombopoietin, which is involved in thrombopoiesis, and divided it into preterm infants and full term infants, SGA children and non-SGA children and clarified the pathological condition. There was no rise in thrombopoietin in SGA children, suggesting thrombopoietin involving to thrombocytopenia in infants. Next, in order to conduct experiments using model rats of SGA children, model rats were created. The research results were presented at the academic meetings of relevant academic societies.

研究分野：新生児医学

キーワード：新生児 血小板 トロンボポエチン トロンボポエチン受容体

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

1. 研究開始当初の背景

1) 本研究の学術的背景

新生児血小板減少症は $150 \times 10^3/\mu\text{L}$ 未満と定義され、新生児集中治療室 (NICU) に入院する新生児の 18 ~ 35% にみられる頻度の高い病態である。特に早産児や、子宮内の慢性的な酸素欠乏によって低身長・低体重となる不当軽量児 (SGA 児) では、出生早期に血小板減少症をきたすことが多い。その多くは自然回復するが、頭蓋内出血をきたすことがあり神経学的予後を悪化させる重要な病態である。

血小板産生を調節する機構は、成人では明らかになっている。主に肝臓で産生されるトロンボポエチン (TPO) と、巨核球前駆細胞から血小板までの巨核球系細胞と赤血球前駆細胞の表面に発現している TPO 受容体である c-Mpl (Myeloproliferative leukemia protein) が機構の主な担い手である。TPO は肝臓で一定量産生され、mRNA レベルの調節は受けない。c-Mpl は二量体を形成して TPO をリガンドとして結合すると、Jak/Stat のリン酸化のシグナル伝達を介して巨核球系細胞の分化と増殖を促進する。一方で c-Mpl は血小板表面にも発現しており、血液中に遊離している TPO は血小板表面の c-Mpl に結合すると消化され代謝される。血小板産生が減少する病態では、血小板表面で捕捉される TPO が減少するため遊離 TPO が増加する。これにより巨核球前駆細胞や巨核球で多くの TPO が c-Mpl と結合するため、血小板産生が亢進する。

しかし、これらの機構解明は成人での報告であり、早産児、とりわけ SGA 児での研究は報告されていない。また、モデル動物を用いた分子生物学的な検討もなされていない。

2) 早産児を対象とした臨床研究

申請者らはこれまでに、本学周産期母子医療センターに入院した早産児を対象に網血小板比率 (IPF: immature platelet fragment) や TPO に着目して研究を行ってきた。

早産児は血小板が減少すると IPF 上昇により血小板が増加するが、SGA 児ではその傾向がなく、血小板減少とともに多血症がみられた (竹下ら, 日本周産期新生児医学会 2015)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、今まで未知であった新生児血小板減少症のメカニズムを分子生物学的レベルで明らかにすることである。

現在日本で臨床使用されている TPO 受容体作動薬はエルトロンボパグとロミプロスチムのみで、適応は主に成人の慢性血小板減少性紫斑病である。新生児血小板減少症の原因が分子生物学的レベルで解明され、TPO の動向が明らかになれば、TPO 受容体作動薬が新生児血小板減少症の新規治療薬となる可能性がある。血小板輸血の代替治療は、輸血に伴う感染症などのリスクを回避するだけでなく、貴重な医療資源の負担を軽減することができる。新生児医療における治療の選択肢に新たな一石を投じるものである。

3. 研究の方法

新生児の血清 TPO 濃度の測定

本学周産期母子医療センターに入院している新生児を対象とし、家族への説明と同意の下で採血し、ELISA 法で血清 TPO 濃度を測定する。ELISA 法には Human TPO Assay Kit-IBL を用いる。TPO や IPF は血小板産生を反映する指標であることから、血小板数の予測マーカーとしての可能性を探る。また、これにより血小板輸血の回避が期待できる。

SGA モデルラットの作成と血小板調節機構の解明

NO 合成酵素阻害薬の L-NAME を投与して HDP を再現し、SGA モデルラットを作成する。L-NAME の持続皮下投与によりラットの血圧が上昇し、子宮脱落膜へ栄養膜細胞の侵入不全が生じて胎盤が低形成になる。胎盤が低形成になった胎仔は母ラットから栄養を十分に享受することができず、SGA モデルラットが再現できる。

SGA モデルラット新生仔の骨髄と肝臓に発現する TPO と巨核球系細胞と血小板表面に発現する c-Mpl を、それぞれ RT-PCR 法と Western blotting 法を用いて測定する。また、これらの蛋白発現に関与するシグナルについても検討する。

4. 研究成果

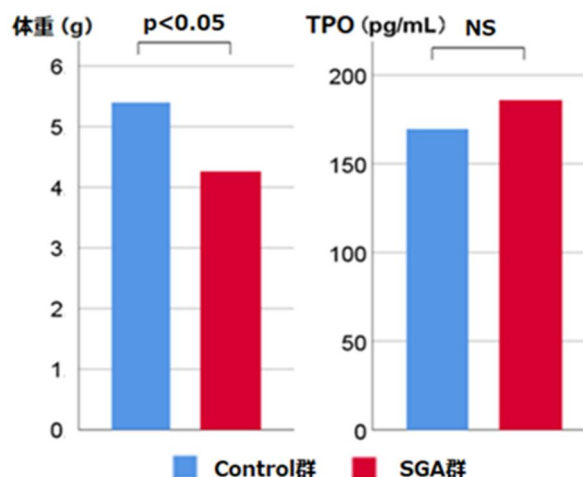
新生児の血清 TPO 濃度の測定

SGA児は多血症があると同時に血小板が減少しているが、IPFが低値で血小板産生能が抑制されていた(日本新生児医学会 2016)。さらに在胎34週未満の新生児を対象にTPO測定を行った結果、SGA児は多血症がありTPOと血小板数とともに有意に低値であることが明らかになった(日本周産期新生児医学会2018)。これらの結果から、早産のSGA児の血小板減少はTPO産生不足が一因であることが示唆された。

	非SGA児 (n=25)	SGA児 (n=7)	p
Hb (g/dL)	16.1 ± 2.5	18.5 ± 2.5	< 0.05
E.Blast (%)	2.6 ± 0.7	4.7 ± 8.4	< 0.05
Plt (×10 ³ /μL)	244 ± 71	181 ± 61	< 0.05
TPO (pg/mL)	428 ± 184	546 ± 236	NS

SGAモデルラットの作成

妊娠8日目の母ラットにNO合成酵素阻害薬L-Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)を含有した浸透圧ポンプを埋伏して持続皮下投与し、妊娠高血圧症候群(HDP)を再現した。Control仔ラット45匹とSGAモデル仔ラット20匹を比較すると、出生体重はControl群5.40 ± 0.20gに対してSGA群4.26 ± 0.24gと低体重となり、SGAモデルラットの作成に成功した。血清TPOはControl群170 ± 127pg/mLに対してSGA群186 ± 133pg/mLと有意な増加を認めなかった(発表準備中)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

日本新生児成育医学会(竹下ら、2016年)
日本周産期新生児医学会(竹下ら、2018年)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔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：山田恭聖

ローマ字氏名：Yamada Yasumasa

所属研究機関名：愛知医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号(8桁): 60405165

(2)研究協力者

研究分担者氏名：青山峰芳

ローマ字氏名：Aoyama Mineyoshi

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。