

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10179

研究課題名(和文)ビリルビン代謝と脳血管内皮の機能的成熟評価による早産児核黄疸予防の基礎的検討

研究課題名(英文) Basic examination of the premature baby kernicterus prevention by bilirubin metabolism and the cerebrovascular endothelial functional

研究代表者

岩瀬 孝志 (Iwase, Takashi)

香川大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30284368

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は早産児におけるビリルビン代謝と脳血管内皮の機能的成熟度を評価し核黄疸の児の成熟度による病態生理学的特徴を解明しその特徴を反映した早産児の機能的成熟度に応じた核黄疸予防管理方法を確立することを最終目標とした。早産児のビリルビン代謝はビリルビン抱合能(UDP-glucuronosyl transferase活性)を血中抱合・非抱合ビリルビン比率で、抱合ビリルビン排泄能を評価した。MRP2/ABCC2は抱合型ビリルビン等の内因性物質や薬物等の外因性物質を肝臓外へ排泄するトランスポーターであるため尿中コプロポルフィリン比(UCP [I/(I+III)])の日齢・修正週数による変化を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

早産児(在胎25～32週、21例)では、生後24時間では高値、その後低下して生後1～4週間では一定値を示す。生後7日のUCP比の低下は生後の適応に伴うコプロポルフィリン I の肝分布の増加に伴う排泄増加と考えMRP2の機能の間接評価として生後2週以降が適切と考えた。また、近赤外光topography(91ch)を使用し脳循環のリズムを検討した。対象は早産児11例、正常産児81例で前頭回、運動野、補足運動野での安静状態におけるoxy-Hbとdeoxy-Hbの位相差の発達変化を検討し、先行研究と同様に正常産児、早産児共に発達に伴い同位相・逆位相へと変化する領域があり、領域特有の発達変化を示した。

研究成果の概要(英文)：We aimed for establishing the kernicterus preventive administration method that accepted the functional maturation value of the premature baby who evaluated the bilirubin metabolism in the premature baby and cerebrovascular endothelial functional maturation value, and this study elucidated a pathophysiological characteristic by the maturation value of children with kernicterus, and reflected the characteristic for the last time. The bilirubin metabolism of the premature baby evaluated bilirubin conjugated excretion ability at blood conjugation, bilirubin unconjugated ratio with bilirubin conjugation ability (UDP-glucuronosyl transferase activity). Because MRP2/ABCC2 was the transporter which excreted the exogenous materials such as endogenous substance or drugs such as the conjugated bilirubin to the liver outside, we examined a change by the number of in instar, a revision week on the day of the urinary coproporphyrin ratio (UCP [I/(I+III)]).

研究分野：小児医療

キーワード：新生児 早産児 抱合型ビリルビン コプロポルフィリン 黄疸 近赤外光

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

早産児における核黄疸は、従来からの黄疸治療基準の適応だけでは予防不可能で、現在も新生児学の分野で医学的に解決できていない問題の一つである。特に超早産児では、正期産児に認められる典型的な核黄疸症状も認めず経過するのが一般的である。血清総ビリルビン値に基づく治療基準に達していなくても、核黄疸を発症する症例が認められ、適切なコンセンサスを得た治療基準はないのが現状である。

現在、日本では正期産児の核黄疸(慢性ビリルビン脳症)は非常にまれであるが、早産児においては報告例が増加している(中村肇ら. 日未新児誌 2014)。日本での在胎 30 週未満で出生した早産児における臨床的な核黄疸の発症頻度は 0.18%で、30 週未満の生存出生 1,000 例に対し 1.8 人となる(Morioka I. *Pediatr Int* 2015)。核黄疸は病理学的に淡蒼球、視床下核、アンモン角など大脳基底核の黄染をきたす疾患でビリルビン脳症とも称され、アテトーゼ型脳性麻痺と共に MRIT2WI で淡蒼球の異常、または聴性脳幹誘発電位 (ABR) 異常を認めると核黄疸と診断される。血中ビリルビン濃度が高値では核黄疸を発症しやすいが、血中の遊離ビリルビン上昇、血液脳関門の破綻、脳組織のアシドーシスなどが核黄疸の発生に関与していると考えられている。現在の早産児を含む新生児における高ビリルビン血症の臨床的治療基準は、出生体重毎の総ビリルビンやアンバウンドビリルビンの基準値が設定されており、その基準値は核黄疸を来した症例や ABR の異常の有無を基に考えられており、個々の児の成熟度を考慮した基準値とはなっていない。早産児の核黄疸を予防するためには、ビリルビン代謝の機能的成熟度と、中枢神経系の血管内皮細胞に存在する血液脳関門等の構造・機能的成熟度との両者を評価し、新たな治療基準の検討が必要であると考えられる。

一般的な核黄疸の重症度における中枢神経機能評価としては ABR が使用されるが、血管内皮の機能評価を直接行った指標ではない。近赤外光を応用した NIRS による脳循環・酸素代謝の測定は、非侵襲的に脳機能や成熟度の評価が可能であり、研究者を含め香川大学小児科学講座では様々な NIRS での研究成果を報告してきた(Kato I, *Brain Dev.* 2012, Tanimoto K, *Pediatr Res.* 2011, Kusaka T, *Pediatr Res.* 2011, Nishida T, *Neurosci Lett.* 2008)。特に 0.1Hz 周囲の脳循環の周期性変動は、動脈系の血管内皮の機能を示していると考えられ、我々は早産児においてその周期性変動が修正日齢ではなく生後日齢に依存し増加することを報告し、早産児の中枢神経系の循環制御や血管反応性の機能的成熟が出生後に開始されることを見出した。この事実から中枢神経系の血管内皮の成熟機能評価として、0.06-0.10Hz の脳循環周期性変動の、全体の変動周波数帯での割合を、使用することが可能であると考えられる。

ビリルビン代謝の発達学的変化に関しては、ビリルビンは肝に取り込まれた後ビリルビン UDP-glucuronosyl transferase(UGT)により抱合を受け毛細胆管膜に存在する multidrug resistance associated protein 2 (MRP2)/ATP-binding cassette(ABC)C2 と ABC2 によって胆汁中に排泄される。しかし、UGT 活性は出生時には正期産児で成人の 1%しかなく、早産児におい

てはより低く成人活性の0.1%程度しかない(Kawade N. Bichem J 1981)。また発達的变化に関しては、生後4週での正期産児と早産児の autopsy で得られた肝 UGT 活性は同等であり、受精後日令ではなく出生後日齢に依存してその活性上昇を認めた報告を行っているが(Kawade N. Bichem J 1981)、その例数が限定されており詳細は不明である。正確な UGT 活性を測定するためには、早産児の肝組織を用いた検討が必要であるが、現在の研究環境では困難である。しかし正期産児においては、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定された総グルクロン酸抱合ビリルビンと非抱合ビリルビン分画のうち主要な 4Z, 15Z-ビリルビンとの比較により、その抱合能がある程度は類推されることを報告してきた(図1: Itoh S et al. Ann Clin Biochem 2001)。ビリルビン排泄能力に関しては、ABCC2 活性は尿中に排出されたコプロポルフィリン I とコプロポルフィリン III の測定を基に、尿中コプロポルフィリン UCPI/I+III 比が biomarker となり(Benx-de Bretagne I, J Biomed Biotechnol 2011)、これを用いた手法により、我々は修正在胎週数と UCPI/I+III 比は負の相関があると報告してきた(図2: Kunikata J. Pediatr Int 2016)。これらの研究成果を踏まえ、肝臓 UGT 活性の成熟度評価は、血清抱合ビリルビン(digluconosyl bilirubin, monogluconosyl bilirubin-endovinyll 及び exovinyll isomer) の bilirubin に対する比率を用いるが、この比率にはビリルビン産生能と抱合ビリルビンの排泄能が関与する点が問題である。このためビリルビンの生成指標として CO-Hb 濃度、肝臓からの排泄能に関しては尿中コプロポルフィリン (UCPI/I+III) 比の測定による MRP2/ABCC2 活性を指標とする。

2. 研究の目的

本研究では、早産児におけるビリルビン代謝と脳血管内皮の機能的成熟度を評価し、核黄疸の児の成熟度による病態生理学的特徴を解明し、その特徴を反映した早産児の機能的成熟度に応じた核黄疸予防管理方法を確立することを最終目標とする。早産児におけるビリルビン代謝の評価は、発達学的変化を考慮して、CO-Hb 濃度、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による血清ビリルビン画分(抱合体を含む)の測定と尿中コプロポルフィリンの測定により行う。中枢神経系の血管内皮細胞の機能的成熟度は、neBr-in 丘に ed spec 2 oscopy (NTRS) による脳循環の周流変動により評価する。そして肝臓ビリルビン抱合能、中枢神経血管内皮の成熟度評価の在胎週数別、生後日齢別の基準値を作成し、これらの成熟度評価と現在の高ビリルビン血症治療基準での体重別同一区分内での相違を検討し、新たな治療基準の評価方法を確立する。

3. 研究の方法

平成 29 年度の研究実施計画 1) 香川大学医学部附属病院および関連施設で入院管理している新生児(正期産児、早産児、超早産児)を対象とし、研究計代を学部内倫理委員会の審査を経た後に、家族からの書面による同意を得た上で行う。 2) 新生児の CO-Hb の測定がビリルビンの生成指標となるため CO-oximeter による CO-Hb (%) の測定を行い、産生能の指標とする。 3) 4Z, 15Z-ビリルビン Txa と抱合ビリルビンの測定を HPLC 等での測定を応用し、血清や尿での測定を行う。正期産児を対象にビリルビン抱合能を示す図を参照し、児の在胎週数毎(37 週以上、

36 から 32 週、32 週から 28 週、27 週から 24 週、23 週以下)および生後日齢毎(生後 1 週以下、2 週、3 から 4 週、4 週以降)に作成し、その特徴を比較検討する。4) 新生児の尿中コプロポルフィリン(UCP1/[]:+H[]:)比を HPLC を使用し解析を行う。抱合能の測定と同様に、在胎週数別、生後日齢別の解析を行う。5) 脳循環周波変動の測定は、多チャンネル NTRS(光トポグラフィ、日立製作所製、24ch もしくは 91ch) を使用し静睡眠時に測定を行う。20 分程度の測定時間で、酸素化 Hb と脱酸素化 Hb での周波変動を共に解析し、0.00 -0.02Hz, 0.02-0.06Hz, 0.06-0.10Hz, 0.10-0.5Hz の周波数の power spectrum density(PSD)を解析し、0.06-0.10Hz の割合の変動を在胎週数別、生後日齢別の解析を行う。また周期変動の領域別の局所的相関を検討し、connectivity の検討も行う。また同時に ABR の測定も行い、各波形の出現率や潜時との比較検討も行う。6) 肝臓ビリルビン抱合能、中枢神経系血管内皮機能の成熟度を在胎週数別、生後日齢別に評価し、関連性を検討すると同時に、現在の高ビリルビン血症治療基準での体重別同一区分内での、成熟度の相違による群分けの可能性を検討する。また ABR 異常例でのそれらの特徴を見出す。

4. 研究成果

平成 29 年度から令和 2 年度に研究実施計画の症例数を増した測定を継続的に行い、ビリルビン抱合能、血管内皮機能の成熟度の在胎週数別、生後日齢別に基準値を作成することを成果にしていたが、現時点では、結論を提示することができていない。

共同研究者が国内、国外の新生児関連学会にて、新生児黄疸の基礎的研究に関する発表をおこなっており、今後研究を続けていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kuboi T, Kusaka T, Okada H, Arioka M, Nii K, Takahashi M, Yamato S, Sadamura T, Jinnai W, Nakao A, Itoh S	4. 巻 61
2. 論文標題 Green light-emitting diode phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia: Randomized controlled trial	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatr Int	6. 最初と最後の頁 465-470
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ped.13821	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kusaka T	4. 巻 61
2. 論文標題 Effectiveness of green light phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatr Int	6. 最初と最後の頁 747
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ped.13982	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakata Y, Okada H, Itoh S, Kusaka T	4. 巻 62
2. 論文標題 Developmental changes in urinary coproporphyrin ratio in premature infants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatr Int	6. 最初と最後の頁 65-69
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ped.14024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yasuda S, Suzuki H, Htun Y, Aye NSS, Oo H, Oo AK, Yu KZ, Sin KS, Itoh S, Kusaka T	4. 巻 -
2. 論文標題 Hour-specific Nomogram for Transcutaneous Bilirubin in Newborns in Myanmar	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pediatr Int	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ped.14251	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohta KI, Suzuki S, Warita K, Sumitani K, Tenkumo C, Ozawa T, Ujihara H, Kusaka T, Miki T.	4. 巻 379
2. 論文標題 The effects of early life stress on the excitatory/inhibitory balance of the medial prefrontal cortex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Behav Brain Res	6. 最初と最後の頁 112306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2019.112306	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morimoto A, Nakamura S, Sugino M, Koyano K, Htun Y, Arioka M, Fuke N, Mizuo A, Yokota T, Kato I, Konishi Y, Kondo S, Iwase T, Yasuda S, Kusaka T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Measurement of the Absolute Value of Cerebral Blood Volume and Optical Properties in Term Neonates Immediately after Birth Using Near-Infrared Time-Resolved Spectroscopy: A Preliminary Observation Study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied Science	6. 最初と最後の頁 2172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/app9102172 - 27 May 2019	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Htun Y, Nakamura S, Nakao Y, Mitsuie T, Nakamura M, Yamato S, Jinnai W, Koyano K, Ohta K, Morimoto A, Wakabayashi T, Sugino M, Fujioka K, Kato I, Kondo S, Yasuda S, Miki T, Ueno M, Kusaka T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Hydrogen ventilation combined with mild hypothermia improves short-term neurological outcomes in a 5-day neonatal hypoxia-ischaemia piglet model.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 4088
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-40674-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hata T, Kanenishi K, AboEllail MAM, Mori N, Koyano K, Kato I, Kusaka T	4. 巻 47
2. 論文標題 Effect of psychotropic drugs on fetal behavior in the third trimester of pregnancy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Perinat Med	6. 最初と最後の頁 207-211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/jpm-2018-0114	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okada H, kawada K, Itoh S, Okazaki M, Kakutani I, Arita T, Yasuda S, Iwase T, Murao K, Kusaka T	4. 巻 55
2. 論文標題 Effects of bilirubin photoisomers on the measurement of direct bilirubin by the bilirubin oxidase method	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ann Clin biochem	6. 最初と最後の頁 276-280
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0004563217716474	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okada H, itoh S, Nii K, Sugino m, Fuke N, Koyano K, Yasuda S, Kusaka T	4. 巻 185
2. 論文標題 Bilirubin photosomers in rhesus monkey serum	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Photochem Photobiol B	6. 最初と最後の頁 50-54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotobiol.2018.05.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 岡田仁, 伊藤進, 横田崇之, 福家典子, 若林誉幸, 近藤健夫, 西庄佐恵, 岩瀬孝志, 日下隆
2. 発表標題 波長の異なる新規青色LED光治療機器の臨床効果に関する基礎的検討
3. 学会等名 第55回日本周産期・新生児医学会学会集
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田仁, 伊藤進, 横田崇之, 明石未来, 水尾杏海, 福家典子, 若林誉幸, 近藤健夫, 西庄佐恵, 日下隆
2. 発表標題 新生児高ビリルビン血症の光療法における新規緑色LED光源の開発
3. 学会等名 第122回日本小児科学会学会集
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日下隆
2. 発表標題 新生児黄疸の管理の現状と解決
3. 学会等名 第156回周産期母子医療研究会 (鳥取県) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田仁, 伊藤進, 福家典子, 横田崇之, 近藤健夫, 近藤園子, 若林誉幸, 小西行彦, 岩瀬孝志, 日下隆
2. 発表標題 ブロンズベビー症候群のブロンズ物質に関する基礎的研究
3. 学会等名 第64回日本新生児育成医学会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安田真之
2. 発表標題 ビリルビンの検査 その値、信じていいですか？
3. 学会等名 第21回新生児呼吸療法・モニタリングフォーラム 長野
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新居広一郎, 岡田 仁, 杉野政城, 伊藤 進, 川本昌平, 近藤健夫, 加藤育子, 西庄佐恵, 小谷野耕佑, 安田真之, 岩瀬孝志, 日下 隆
2. 発表標題 新生児集中治療室 (NICU) で使用する薬剤のビリルビン遊離作用の研究-第2報: 抗生物質の文献学的検索
3. 学会等名 第44回日本小児臨床薬理学会学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	安田 真之 (Yasuda Saneyuki) (00380155)	香川大学・医学部附属病院・准教授 (16201)	
研究分担者	小谷野 耕佑 (Koyano Kosuke) (20437685)	香川大学・医学部附属病院・助教 (16201)	
研究分担者	岡田 仁 (Okada Hitosi) (30253272)	香川大学・医学部・准教授 (16201)	
研究分担者	中村 信嗣 (Nakamura Shinji) (30437686)	香川大学・医学部附属病院・助教 (16201)	
研究分担者	日下 隆 (Kusaka Takashi) (50274288)	香川大学・医学部・教授 (16201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------