

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09237

研究課題名(和文)分娩時オキシトシン投与モデルマウスの脳細胞障害と発達障害

研究課題名(英文) Brain damage and developmental defects in a mouse model of high-dose oxytocin induced delivery

研究代表者

板倉 敦夫 (ITAKURA, ATSUO)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：70262897

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では先行研究に引き続き、高用量オキシトシン(OXT)を用いた分娩誘発での新生仔マウスの前頭前野の脳損傷についての詳細な解析を行った。高用量OXT誘発により出生した雄の仔マウスで腹内側前頭前野の下辺縁皮質と前辺縁皮質および脳梁小鉗子に細胞死を認めた。これらの部位は自閉症スペクトラムに關与するとされており、高用量OXT誘発分娩により出生した雄の仔マウスの脳損傷の影響を受けやすいことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オキシトシンは分娩誘発・促進剤として産科の処置で一般的に使用される薬剤であり、有害事象として過剰な子宮収縮によって、胎児へ低酸素性脳症などの有害事象が発生することが知られている。母獣への高用量でのオキシトシン投与は、過剰な子宮収縮を誘発させた今回の解析で影響を受けた領域は、自閉症スペクトラム障害など精神発達障害に關連する部位であった。疫学調査で分娩時オキシトシンを使用した児に精神発達障害が多いとの報告も見られ、オキシトシンによる過剰な子宮収縮と自閉症スペクトラム障害発症の關係があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, following a previous study, we performed a detailed analysis of brain damage in the prefrontal cortex of neonatal mouse pups induced by high-dose oxytocin (OXT)-induced parturition. Cell death was observed in the inferior and anterior limbic cortices of the ventral medial prefrontal cortex and in the cerebrospinal forceps in male pups born after high-dose OXT induction. These areas have been implicated in the autism spectrum, suggesting that they are susceptible to brain damage in male pups born after high-dose OXT-induced delivery.

研究分野：産婦人科 周産期

キーワード：オキシトシン 自閉症スペクトラム障害 分娩誘発

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

オキシトシン(OXT)による分娩誘発や陣痛促進は、これまで多くの異常分娩を減少させており、母児の安全を守る周産期医療に貢献していることは言うまでもない。ところが先行する疫学研究の結果から、分娩時の使用は胎児の脳へ悪影響を及ぼす可能性があることが示唆されている。近年 OXT を使用して出生した児に、発達障害とくに自閉症スペクトラム発生頻度が高いとの疫学研究の報告もあり、OXT 投与による胎児脳への影響が懸念されている。

2. 研究の目的

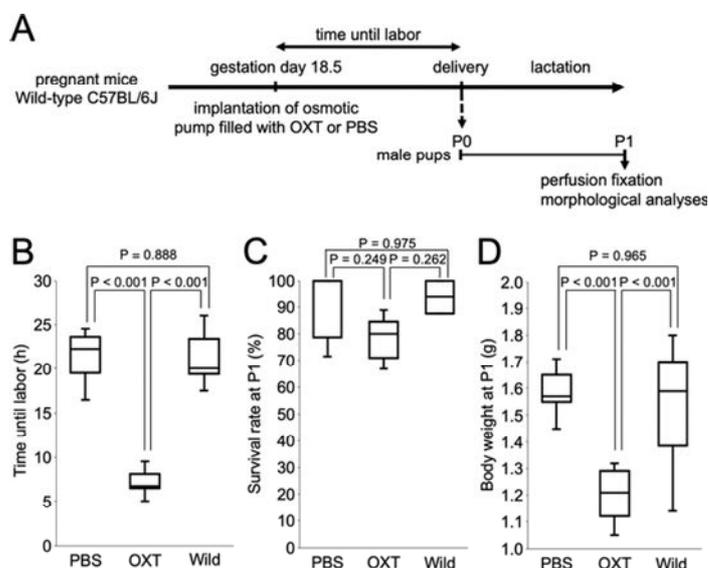
本研究は、これまで疫学研究で疑われた OXT の胎児脳への影響を動物実験モデルで再現できるのかを明らかにすることを目的とした。そこで妊娠末期の母獣に高用量の OXT を投与するモデルマウスを作成し、その際に分娩時に使用したオキシトシンの影響を検討するため、出生した新生仔の脳組織の損傷を明らかにするために脳の部位別に組織学的検討を行った。

3. 研究の方法

18.5 日目の妊娠マウス(C57BL/6J)の背部皮下に浸透圧ポンプを埋め込み、6 μ g/day の速度で OXT を投与した(OXT 群)。一方 PBS を同様に投与したマウスを PBS 群とし、さらにポンプを埋め込まない妊娠マウスを Wild 群とした。出生 24 時間でも生存新生仔数から生存率(P1 survival rate)、生存新生仔の平均体重から P1 body weight を算出した。雄の新生仔を安楽死ののちに脳を摘出し、TUNEL 染色、透過型電子顕微鏡検査、抗 Iba-1 抗体による免疫組織染色を実施した。

4. 研究成果

図 1 に実験プロトコールと 3 群の分娩時間、P1 survival rate、P1 body weight を示した。分娩時間は OXT 群が有意に短く、P1 survival rate、P1 body weight も他の 2 群と比較して有意に少なかった。オキシトシンによる分娩誘発モデルとしての妥当性が示された。一方 PBS 群と Wild 群には差はなく、手術の影響はないと考え、以下は OXT 群と PBS 群で比較した。



rate, P1 body weight

次に TUNEL 陽性細胞数を脳梁小鉗子(forceps minor of corpus callosum: FMI)と腹内側前頭前野の下辺縁皮質と前辺縁皮質(pre limbic cortex/ infralimbic cortex: PL/IL)で OXT 群と PBS 群で比較検討したところ、両領域ともに OXT 群の陽性細胞が有意に多く認められた。(図 2)

さらに透過型電子顕微鏡で FMI の超微細構造を確認したところ、核濃縮と debris of dying cell が多数みられた。クロマチン凝集した細胞では、貪食されていないものも見られたが、多くの dying cell は貪食されていた。貪食された核濃縮を伴う dying cell は、OXT 群に多くみられた。

次に PL/IL 領域、FMI 領域における Iba-1 陽性ミクログリア細胞は、OXT 群で PBS 群に比べ、有意に多く見られた。(図 4) 今回の検討では、高用量 OXT 投与によって、腹内側前頭前野の下辺縁皮質と前辺縁皮質、さらには脳梁小鉗子で TUNEL 陽性もしくは核濃縮を伴う Iba-1 陽性のミクログリア細胞が大幅に増加し、これらミクログリア細胞が死にゆく細胞を貪食することが明らかとなった。以上より、腹内側前頭前野の下辺縁皮質と前辺縁皮質および脳梁小鉗子は、高用量 OXT 誘発分娩により出生した雄の仔マウスの脳損傷の影響を受けやすいことが示唆された。

高用量 OXT 負荷による分娩誘発モデルは、生存率が低く、体重も小さいため、過強陣痛のような、強い子宮収縮を誘発していることが容易に想像される。そのため、今回のマウスモデルの結果を直ちにヒトの分娩誘発で発生していると考えるのは危険であるが、FMI や PL/IL 領域は自閉症スペクトラム障害など精神発達障害に関連する部位であり注目されるべき結果であろう。OXT による分娩誘発と自閉症スペクトラム障害を含む精神発達障害発症の関係性についても検討を続けていく必要がある。今回は出生早期の脳組織を検討したが、今後は OXT 群のマウスを成獣まで育成させて行動実験を行い、今回の脳損傷が実際の行動異常など、精神発達障害を mimic するモデルとみなせるか検討を行うべきであろう。さらに、OXT の用量依存性を確認し、分娩時間に影響しない程度の OXT 負荷による脳損傷や OXT 以外のプロスタグランジンなどによる分娩誘発でも、同様な所見が得られるかなどを検討し、今回の結果をさらに実際のヒトで行われている分娩誘発での有害事象に関連するのを引き続き研究していく必要があると考えた。

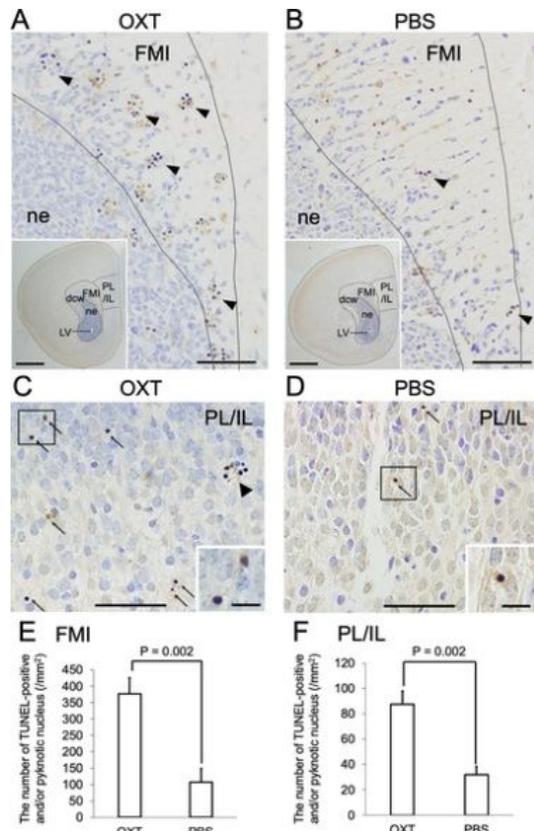


図2 OXT 群と PBS 群における TUNEL 陽性細胞数 (FMI 領域、PI/IL 領域)

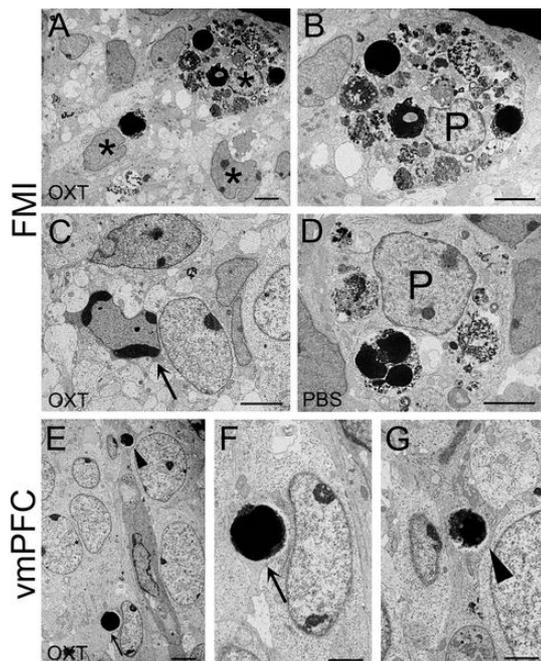


図3 OXT 群と PBS 群における透過型電子顕微鏡検査 (FMI 領域、PI/IL 領域)

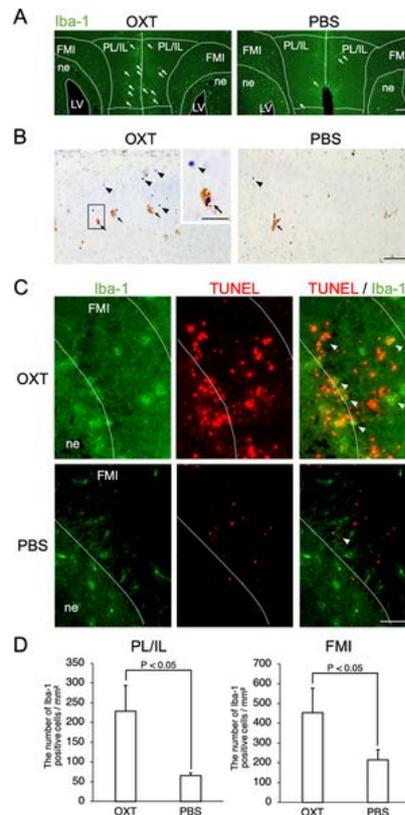


図4 OXT 群と PBS 群における TUNEL 陽性細胞と Iba-1 陽性細胞数の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kitamura Eri, Koike Masato, Hirayama Takashi, Sunabori Takehiko, Kameda Hiroshi, Hioki Hiroyuki, Takeda Satoru, Itakura Atsuo	4. 巻 16
2. 論文標題 Susceptibility of subregions of prefrontal cortex and corpus callosum to damage by high-dose oxytocin-induced labor in male neonatal mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	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） 10.1371/journal.pone.0256693	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 Hirayama, T., Hiraoka, Y., Kitamura, E., Miyazaki, S., Horie, K., Fukuda, T., Hidema, S., Koike, M., Itakura, A., Takeda S.	4. 巻 141(46)
2. 論文標題 Oxytocin induced labor causes region and sex-specific transient oligodendrocyte cell death in neonatal mouse brain.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 66-78
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11111/jog.14149	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	平山 貴士 (TAKASHI HIRAYAMA) (20816962)	順天堂大学・医学部・助教 (32620)	
研究分担者	小池 正人 (MASATO KOIKE) (80347210)	順天堂大学・大学院医学研究科・教授 (32620)	

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
---------	---------