

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17370

研究課題名(和文)母体へのベタメタゾン追加投与が動脈管閉鎖へ与える効果の検討

研究課題名(英文)The effects of additional antenatal betamethasone administration on postnatal ductus arteriosus closure

研究代表者

鈕持 孝博(KEMMOTSU, Takahiro)

横浜市立大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：20784713

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):本研究は動脈管閉鎖を主眼に置いた母体へのベタメタゾン分娩前追加投与の効果を提唱することを目的としたが、調整すべき前提条件として酸素分圧に着目した。先行研究において出生後の酸素分圧上昇が塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)の分泌を増加させ、動脈管平滑筋細胞の血管内腔への遊走を促進することで内膜肥厚を形成し、動脈管の器質的閉鎖を促す可能性が見出された。酸化ストレスがbFGF産生を促進するとされるため胎児環境を模した低酸素状態(酸素濃度3%)で培養した動脈管と大動脈平滑筋細胞を酸素濃度21%に置いたところ動脈管平滑筋細胞でのみ酸化ストレスに伴う活性酸素種活性が上昇することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、動脈管平滑筋細胞において出生後の酸素分圧上昇による活性酸素種活性上昇が生じ、それがbFGF産生を誘導することで血管内腔への遊走が促進されて内膜肥厚を形成し、そして器質的閉鎖を促進するという可能性が示唆された。現在未熟児動脈管開存症に対する内科的治療手段はプロスタグランジン合成阻害剤のみであり、治療不応の場合はより侵襲の高度な外科的治療に踏み切るしか方法はないが、本研究は酸素分圧の調整が未熟児動脈管開存症治療の一助になる可能性を示していると考えられ、新生児医療の更なる発展に寄与する結果を得られたと考えている。

研究成果の概要(英文):We aimed to investigate the effects of additional antenatal betamethasone administration on postnatal ductus arteriosus closure. We found that partial oxygen pressure affected remodeling of the ductus arteriosus, which may influence betamethasone-induced ductus arteriosus closure. We, therefore, focused on the effect of elevation in oxygen tension on ductus remodeling in the present study. We cultured rat DASMCs and aortic smooth muscle cells in hypoxic conditions mimicking a fetal environment (3% oxygen concentration) and then exposed them to 21% oxygen concentration. The elevation in oxygen tension increased basic fibroblast growth factor (bFGF) secretion in ductus arteriosus smooth muscle cells (DASMCs). bFGF promoted DASMC migration, resulting in forming intimal thickening which is important for anatomical closure of the ductus arteriosus.

研究分野：未熟児・新生児医療

キーワード：動脈管 酸素 bFGF 活性酸素

1. 研究開始当初の背景

過去 30 年間、出生数の減少に関わらず未熟な週数で出生する児の割合、特に超低出生体重児は年々増加しており、これらの児の管理では動脈管閉鎖による体循環確立の意義は非常に大きい。過去の臨床研究において、早産児分娩前の母体に、新生児呼吸窮迫症候群 (RDS) 予防の標準治療として糖質コルチコイドであるベタメタゾン (BMZ) の筋肉注射を行うと、出生児の動脈管閉鎖率も上昇する可能性がある¹⁾²⁾³⁾⁴⁾と報告されてきた。そして研究代表者は先行研究で、母体ラットへの BMZ 投与が胎児動脈管平滑筋細胞 (DASMC) において細胞遊走関連遺伝子である ADP-Ribosyltransferase 3 の発現を増加させ、遊走を亢進することで内膜肥厚を誘導し動脈管閉鎖に寄与している、という機序を見出した。

現在の母体 BMZ 投与のガイドラインでは、最終投与から分娩までの間隔が長期となった場合の追加投与については規定されていないが、Momma ら⁵⁾ や Wasserstrum ら⁶⁾ は糖質コルチコイドによる動脈管収縮を報告しているその効果は可逆的で時間経過と共に減弱するとされており、動脈管閉鎖の観点からは最終投与から長期間経過後の BMZ 追加投与の意義は大きいことが想定される。

2. 研究の目的

本研究は、母体への BMZ 投与から分娩までの間隔の動脈管閉鎖への影響と、初回投与から間隔をあけて分娩前に追加投与を行うことの効果を含めて検討し、動脈管閉鎖を主眼に置いた母体への BMZ 分娩前追加投与の効果⁷⁾を提唱することを目的とした。しかしその前段階として、条件を揃えた評価を行うためには他の動脈管閉鎖に影響を与え得る因子について検討しておく必要があると考えた。

これまで出生後の酸素分圧の上昇が動脈管の収縮を促進することは良く知られていたが、動脈管の内膜肥厚による器質的閉鎖への関与は知られていなかった。所属研究室による先行研究において、出生後の酸素分圧の上昇が塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic Fibroblast Growth Factor; bFGF) の分泌を増加させ、動脈管平滑筋細胞の血管内腔への遊走を促進することで内膜肥厚を形成し、動脈管の器質的閉鎖を促す可能性が見出された。そこで我々は動脈管閉鎖に影響を与える因子としての酸素に着目し、酸素分圧上昇が bFGF を増加させる機序を分子生物学的に検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動脈管平滑筋細胞への酸素刺激による活性酸素量変化の検討

酸化ストレスが bFGF 産生を誘導すると報告されているため⁷⁾、まず胎児環境を模した低酸素 (酸素濃度 3%) 状態で動脈管と大動脈平滑筋細胞を培養し、その後新生児環境と同じ酸素濃度 (酸素濃度 21%) とすることで、酸化ストレスに伴う活性酸素量に変化が生じるか細胞内活性酸素種 (Reactive Oxygen Species; ROS) 活性を用いて測定を行った。

(2) 動脈管平滑筋細胞における活性酸素産生経路の検討

血管平滑筋細胞における ROS 産生は NADPH オキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、ミトコンドリアの電子伝達系等により行われるため⁸⁾、低酸素 (酸素濃度 3%) 状態で培養した動脈管平滑筋細胞に NADPH オキシダーゼ阻害剤である Apocynin またはミトコンドリア電子伝達系阻害剤である Rotenone を添加後大気下 (酸素濃度 21%) に置き、ROS 活性の測定を行った。

4. 研究成果

(1) 動脈管平滑筋細胞への酸素刺激による活性酸素量変化の検討

低酸素状態で培養した動脈管平滑筋細胞を大気下に置くことで ROS 産生が上昇するが、大動脈平滑筋細胞ではその変化が生じないということが示唆されたが、値の変動が大きく信頼性に欠ける結果となった。

(2) 動脈管平滑筋細胞における活性酸素産生経路の検討

いずれの阻害剤においても低酸素から大気下に移すことで生じる ROS 活性上昇の抑制を確認することはできなかった。また、阻害剤を添加しないコントロール群においても ROS 活性上昇が不安定となっていたことから、阻害剤の種類のみではなく実験方法自体の再検討が必要であると考えられた。

< 引用文献 >

- (1) Elimian A, Verma U, Beneck D, Cipriano R, Visintainer P, Tejani N. Histologic chorioamnionitis, antenatal steroids, and perinatal outcomes. *Obstetrics and gynecology* 2000; 96: 333-336

- (2) Amorim MM, Santos LC, Faundes A. Corticosteroid therapy for prevention of respiratory distress syndrome in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 1283-1288
- (3) Morales WJ, Angel JL, O'Brien WF, Knuppel RA. Use of ampicillin and corticosteroids in premature rupture of membranes: a randomized study. *Obstetrics and gynecology* 1989; 73: 721-726
- (4) Waffarn F, Siassi B, Cabal LA, Schmidt PL. Effect of antenatal glucocorticoids on clinical closure of the ductus arteriosus. *American journal of diseases of children* 1983; 137: 336-338
- (5) Momma, K., Nishihara, S. and Ota, Y. Constriction of the fetal ductus arteriosus by glucocorticoid hormones. *Pediatr Res* 1981; 15(1): 19-21
- (6) Wasserstrum, N., Huhta, J.C., Mari, G., Sharif, D.S., Willis, R. and Neal, N.K. Betamethasone and the human fetal ductus arteriosus. *Obstet Gynecol* 1989;6: 897-900.
- (7) Pechan PA, Chowdhury K, Seifert W. Free radicals induce gene expression of NGF and bFGF in rat astrocyte culture. *Neuroreport* 1992; 3: 469-472
- (8) Montezano AC, Touyz RM. Reactive oxygen species and endothelial function--role of nitric oxide synthase uncoupling and Nox family nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2012; 110: 87-94

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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