

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3月31日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591413

研究課題名（和文）

非侵襲的アプローチによるストレスモニタリングと児に優しい周産期医療に関する研究

研究課題名（英文）

Baby-friendly perinatal care with non-invasive monitoring of neonatal stress

研究代表者

長沖 周也 (Syuya Nagaoki)

金沢大学・附属病院・講師

研究者番号：70361996

研究成果の概要（和文）：

本研究では、周産期医療におけるきめ細かな診療と、できるだけ児にストレスを与えない baby-friendly な医療介入について最適のバランスを得るために、非侵襲的ストレスモニタリングの方法論の開発を目指した。成熟新生児では、生理的な血清ビリルビン値の変動と関連して尿中バイオピリン濃度の変化が観察された。一方、極小未熟児においては、このような生理的变化とは別に、周産期に急激な尿中バイオピリン濃度の変化を示す症例があり、強い酸化ストレスを反映している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we aimed to investigate the development of baby-friendly intervention of the infants through non-invasive stress monitoring. In mature neonates, urinary biopyrin concentration increased after birth along with the physiological increase of serum bilirubin levels. On the other hand, unexpected increase of biopyrin was observed in extreme premature infants, suggesting the intense physical stress exposed during the perinatal period.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 ・ 胎児・新生児医学

キーワード：新生児，バイオピリン，酸化ストレス，モニタリング，非侵襲的

1. 研究開始当初の背景

わが国における未熟児・新生児医療の進歩は目覚ましく、諸外国と比較しても周産期死亡率の低値が顕著である。一方で、最近の医療技術の進歩は未熟児・新生児医療の目標を単なる救命から、後遺症のない、健やかに発育する新生児を送り出すため

の Intact survival、さらにはできるだけ児にストレスを与えず優しい医療を提供する Baby friendly な医療へと変わりつつある。

低出生体重児の抱える問題の一つは呼吸・循環系の安定と酸素投与や補助呼吸に伴うストレスを如何に軽減するかである。

過剰な酸素投与がフリーラジカルの作用による脳組織や臓器の障害を惹起することは良く知られており、必要最低限の酸素投与量の設定が重要な課題となる。血中酸素濃度の過剰な変動が網膜症の発症を惹起することも示唆されており、児の状況に応じた投与量の調節が望ましいと考えられる。また、補助呼吸の際には酸素による傷害のみでなく、気道内圧の上昇に伴う圧傷害にも配慮する必要があり、補助呼吸条件の設定や抜去のタイミングの決定など、慎重に対応すべき事項が山積している。このような課題に対して、最低限の介入により児の状態を把握しながら処置を選択する配慮から、従来は少ない検査所見と臨床症状、経験則から判断がなされることが多かった。大多数の症例ではこのような新生児科医の深い洞察が正しい決断を導いていたが、判断が難しい症例も少なからずある。将来に向けてより良い治療法を探索すること、現時点では治療的介入を必要最小限とするための既知の指標が少ないことなどを考慮すると、児のストレスを客観的に判断するための、できるだけ非侵襲的な評価指標の開発が望まれる。

バイオピリンは感染、疲労などのストレス状況下で迅速に産生され尿中に排泄されることが、動物実験が成人を対象とした研究により証明されている。新生児期は生理的にビリルビンが高値となる時期である。酸素ラジカルの基質となるビリルビンは一方で高ビリルビン血症による中枢神経障害の原因となる可能性があると同時に、他方ではストレス除去因子としての役割を有することが示唆されている。

当院においては未熟児・新生児医療の改善のためにできるだけ過剰な介入を避け、必要最低限の呼吸補助を行うことにより後期の呼吸障害を低減する試みを続けてきた。臨床的には成功しているかに見えるこの試みも、その方法論を支える客観的な指標が乏しく、一般化しているとは言い難い。本研究では、未熟児・新生児医療の一線で最新の臨床手技を駆使する申請者らのチームと、感染・免疫に関して深い経験と洞察を持つ研究分担者が協力して、周生

期のダイナミックなストレス応答を免疫学的手法により解析し、ひいてはこのような新生児医療の隘路から抜け出そうとする試みである。

2. 研究の目的

本研究は以下の2点を明らかにすることを目的にする。

- 血清H0-1や尿中バイオピリンなどのビリルビン代謝に関わる物質が周生期ストレスを反映するか？
成人や動物モデルにおいてはこれらの指標がストレスを反映してダイナミックに変動していることが示されている。正常分娩であっても、短期間の内に驚くべき生理変化が起こる新生児期には、それだけでも種々のストレス指標が変動することが予想される。本研究ではまず、正常新生児におけるそのような変動を明らかにした上で、過剰/病的ストレスに暴露された児における変化の意義を検討する。

- これらが周生期ストレスの指標となるとしたら、その変動を規定する最大要因はなにか？

上記の結果を踏まえて、観察されたストレス指標の変動を規定する最大の要因が何かを探索する。出生体重、周生期の状態、低酸素、低血糖、UV照射、高ビリルビン、呼吸補助など、多様なストレス要因の中で何が最も重要かを比較検討する。さらに長期的なストレス指標の変動と様々な後遺症（網膜症、慢性肺疾患、神経学的後遺症など）との関連についても検討を加え、ストレス指標が長期予後の予測指標となり得るかについても分析する。

3. 研究の方法

1) 対象の選定；正常満期産児を対照として、未熟児を以下の4群にわけて検討

- 在胎 34～36 週
- 在胎 30～33 週
- 在胎 26～29 週
- 在胎 26 週未満

2) 尿中バイオピリンの定量

新生児尿は採尿パックを男児の尿道口付近にあてて置くことにより自然排尿を採取する。粘着剤などにより密着は行わない。手技上の難しさがあり、女児は対象としない。採取された尿はできるだけ速やかに遮光し、24時間以内に冷凍保存する。尿の採取は生直後より、毎日1回、生後7日目までと、以後は1週間毎に施行する。バイオピリンの採取・保存条件に関しては、予備実験により妥当性を検討してある。

3) 血清 HO-1 の定量

新生児血清 0.1ml ずつを冷凍保存。測定はヒト HO-1 定量 ELISA キットを用いて行う。血清採取は生下時の臍帯血を第1回とし、以後は毎週1回とする。

4) 血清サイトカインプロファイルの検討

重症感染症の合併、多臓器不全、外科手術など、全身高サイトカイン血症が示唆される症例については、適宜血清を保存し、炎症性サイトカインのプロファイル解析を行う。サイトカイン定量は ELISA キットにより行う。プロファイリングは小児における多数例の検討データと比較する。

4. 研究成果

1) 未熟児・新生児における尿中バイオピリン濃度と血清ビリルビン値の関係；

成熟新生児では、生理的な血清ビリルビン値の変動と関連して尿中バイオピリン濃度の変化が観察された。一方、極小未熟児においては、このような生理的変化とは別に、周生期に急激な尿中バイオピリン濃度の変化を示す症例があり、強い酸化ストレスを反映している可能性が示唆された。

2) 薬剤によるHO-1産生誘導と酸化ストレス緩和の可能性；

クルクミンを用いて末梢血単核球よりのHO-1産生誘導が確認された。このことは、薬理的アプローチにより炎症病態を緩和する治療の可能性を示しており、周生期における酸化ストレス軽減のための方法論の開発の契機となることが期待される。

3) 多様な病態における血清サイトカインプロファイリング；

種々の炎症性疾患における強い炎症反応と血球貪食の発症機構を明らかにするために、血清サイトカインプロファイルを解析した。その結果、血球貪食症候群においてはIL-6、neopterin、IL-18などが増加していることが示された。一方で、回復期のプロファイルはHLHの発症要因となる基本病態により差がある可能性が示唆されている。例えば、全身型若年性特発性関節炎のような病態では、急性炎症病態が終息しても、IL-18の高値のみが遷延するが、EBV-HLHでは全てのサイトカインはほぼ一様に正常化する。これらの違いはHLHを発症するに至る病態の違いを反映していると考えられ、その詳細は現在解析中である。この成果の一部も現在論文が受理されている。またこのような急性炎症疾患における成果を踏まえて、周生期の酸化ストレス、炎症病態評価におけるサイトカイン定量の意義についても検討中である。

4) HO-1と血管内皮機能；

HO-1が血管機能、特に凝固・線溶系の機能制御に重要な役割を果たすことが示された。TNF- α による誘導される組織因子 (Tissue factor; TF) や PAI-1 (plasminogen activator inhibitor type 1) の産生がHO-1/COにより強く抑制されることが明らかにされた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

1) Radhakrishnan N, Yadav SP, Sachdeva A, Pruthi PK, Sawhney S, Piplani T, Wada T, Yachie A. Human heme oxygenase-1 deficiency presenting with hemolysis, nephritis and asplenia. J Pediatr Hematol/Oncol 2011; 33: 74-78. 査読有

2) Shimizu M, Yokoyama T, Yamada K, Kaneda H, Wada H, Wada T, Toma T, Ohta K, Kasahara Y, Yachie A. Distinct cytokine profiles of systemic-onset juvenile

idiopathic arthritis-associated macrophage activation syndrome with particular emphasis on the role of interleukin-18 in its pathogenesis. *Rheumatology* 2010; 49: 1645-1653. 査読有
DOI:10.1093/rheumatology/keq133

3) Futaki T, Ei K, Shigeki O, Hiroshi N, Yachie A. Curcumin-induced modulation of inflammatory cytokine production by circulating mononuclear cells via heme oxygenase-1. 金沢大学つるま保健学会雑誌 2009; 33: 11-19. 査読有

4) 丸山慶子、森下英理子、關谷暁子、長屋聡美、角野忠昭、朝倉英策、中尾眞二、大竹茂樹、谷内江昭宏 ヘモオキシナーゼ-1 (HO-1) による血管内皮細胞上の組織因子、トロンボモジュリンの調節 日本血栓止血学会誌 2009; 20: 316-322. 査読有

[学会発表] (計 3 件)

1) Yokoyama T, Ohta K, Shimizu M, Yachie A. Urinary heme oxygenase-1 is a novel biomarker for an inflammatory tubulointerstitial damage in acute kidney injury. 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association. 2010 Aug. 29- Sept. 2, New York Hilton (New York).

2) 谷内江昭宏、和田泰三、清水正樹、横山忠史、東馬智子、Radhakrishnan N、Sachdeva A HO-1 欠損と無脾症；第 2 例目の HO-1 欠損症とその病態 第 6 回 Heme Oxygenase 研究フォーラム 2009, Aug. 28, 京都府立医科大学 (Kyoto) .

3) Shimizu M, Yokoyama T, Kaneda H, Wada T, Toma T, Ohta K, Kasahara Y, Yachie A. The diagnostic significance of interleukin-18 in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis predisposing to macrophage activation syndrome. The 9th World Congress on Inflammation. 2009 Jul.6-10, Keio Plaza Hotel Tokyo (Tokyo) .

6. 研究組織

(1) 研究代表者
長沖 周也 (Syuya Nagaoki)
金沢大学・附属病院・講師
研究者番号：70361996

(2) 研究分担者
谷内江 昭宏 (Akihiro Yachie)
金沢大学・医学系・教授
研究者番号：40210281