

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：13401  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23791219  
 研究課題名（和文） 慢性肺疾患の予測・治療効果判定に有用な新たなバイオマーカーの開発  
 研究課題名（英文） Identification of new biomarkers for the prediction of disease onset and for therapy evaluation in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia  
 研究代表者  
 徳力 周子（TOKURIKI SHUKO）  
 福井大学・医学部・助教  
 研究者番号：60510237

## 研究成果の概要（和文）：

早産児における気管支肺異形成（BPD）発症の予測に、CO 生成のマーカーである CO-Hb、NO 生成のマーカーである Met-Hb の変動が利用可能であるかどうかを検討した。中等度～重度 BPD を発症した児は生後 5～7 日の CO-Hb 値が軽度 BPD または BPD を発症しなかった児と比較して有意に高値であった。また、酸化ストレスマーカーである尿中 AOPP、8-OHdG も中等度～重度 BPD 発症児では生後 5～7 日に高い傾向を示した。出生後早期の CO-Hb 値上昇は酸化ストレスによるヘムオキシゲナーゼ 1（HO-1）誘導を反映しているものと推察され、中等度以上の BPD 発症を早期予測するマーカーとして有用であると思われる。

## 研究成果の概要（英文）：

Here, we examined levels of carboxyhemoglobin (CO-Hb) and methemoglobin (Met-Hb), markers of CO production and NO production, respectively, and discuss the usefulness of these markers to predict bronchopulmonary dysplasia (BPD) in preterm infants. CO-Hb levels in infants with moderate/severe BPD on postnatal days 5–7 were significantly higher than those in infants with no/mild BPD. Levels of urinary oxidative stress markers, i.e., advanced oxidative protein product (AOPP) and 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), in infants with moderate/severe BPD also tended to be higher than those in infants with no/mild BPD on postnatal days 5–7. Thus, our data suggest that high levels of CO-Hb during the early neonatal period may reflect induction of hemeoxygenase-1 (HO-1) by oxidative stress and that CO-Hb levels are useful for early prediction of moderate/severe BPD in preterm infants.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

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：未熟児医学

## 1. 研究開始当初の背景

気管支肺異形成 (Bronchopulmonary dysplasia: BPD) は呼吸窮迫のために酸素投与・人工呼吸管理された早産児に発生する気道粘膜化生、肺気腫、間質線維化等を特徴とした慢性の肺疾患である。近年、母体への出生前ステロイド投与と出生後のサーファクタント補充療法により急性期の気道傷害を著しく減少させることには成功したが、肺胞の発育停止と肺の微細血管系の発育停止を主体とする新しいタイプの BPD の病態が問題となっている。

## 2. 研究の目的

一酸化炭素 (carbon monoxide; CO)、一酸化窒素 (nitric oxide; NO) は血管系など体内の組織・臓器の恒常性維持に重要な因子である。特に NO は、新生児の肺胞発達の介在物質として作用すると言われており、BPD の病態形成と密接な関係があるものと思われる。NO を含めた活性酸素・活性窒素の負荷が過剰になれば組織障害が進行するが、一方、NO 欠乏状態では血管内皮機能不全、組織・臓器障害が引き起こされる。CO、NO とも酸化ストレスを反映する生体マーカーとして注目されており、非侵襲性に優れる呼気ガスの測定を臨床応用する研究が進んでいるが、超低出生体重児から呼気を回収し測定することは高度な技術と設備を必要とするため、実用化は未だ困難であるといえる。

CO はヘムオキシゲナーゼにより生成され、その一部はヘモグロビンと結合してカルボキシヘモグロビン (carboxyhemoglobin; CO-Hb) として存在する。ヘムオキシゲナーゼには 1 型と 2 型が存在するが、このうち 1 型は heat shock protein 32 とも言われており、各種サイトカインや活性酸素で誘導される。また、NO は NO 合成酵素によりアルギニンと酸素か

ら生じ、酸素の共存下でヘモグロビン鉄を 2 価から 3 価に酸化し、メトヘモグロビン (methemoglobin; Met-Hb) を生成させる。

本研究ではカルボキシヘモグロビン (CO-Hb)、メトヘモグロビン (Met-Hb) が CO、NO の産生をそれぞれ反映する指標であることに注目し、ほかの酸化ストレスマーカー等との経時的な関連性を明らかにすることで、BPD の早期発見・早期介入に有用な簡便で低侵襲性の新しい検査法を開発することを目標とした。

## 3. 研究の方法

在胎 32 週以下で出生した新生児を対象として日常診療内に行われた血液ガス検査で同時に CO-Hb、Met-Hb を測定する。また、尿 8-OHdG (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: 核酸酸化損傷マーカー)、尿中 AOPP (Advanced oxidation protein products: 蛋白質酸化損傷マーカー)、尿中 HEL (Hexanoyl-lysine: 脂質酸化損傷マーカー)、血中・尿中 NO 代謝物 (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、ADMA (asymmetric dimethylarginine: 内因性の NO 合成阻害因子) の計測を行い、慢性肺疾患とこれらのパラメーターとの関連性を検討する。

## 4. 研究成果

(1) 早産児における CO-Hb 値と BPD の関連性についての検討

在胎 32 週以下で出生した早産児 23 名を対象とした。BPD の定義は National Institute of Child Health Workshop (NICHD) の分類に従った。BPD 発症なし、または軽症 BPD の児は 12 名、中等症～重症 BPD の児は 11 名であった。在胎週数 (範囲 [中央値]) はそれぞれ 27～32 [29] 週、22～32 [27] 週 (p < 0.05)、出生体重はそれぞれ 908～1951 [1317] g、452～1434 [1124] g (p < 0.05) であった。性別、母体絨毛膜羊膜炎の有無、人工呼吸管理日数

は両群間で有意な差を認めなかった。全例において出生前に母体がステロイド投与を受けていた。脳室内出血(Papile gradeⅢ以上)および重症敗血症の児は除外した。血液型不適合による重症高ビリルビン血症をきたした児はいなかった。

中等症～重症 BPD を発症した児は生後 7 日前後、生後 14 日前後、生後 21 日前後の CO-Hb 値が BPD 発症なし、または軽症 BPD の児と比較して有意に高値であった(生後 5-7 日:p<0.001、生後 12-14 日:p<0.01、生後 19-21 日:p<0.01)(図 1)。また、生後 7 日前後の尿中 8-OHdG 値、尿中 AOPP 値が中等度～重度 BPD 発症児ではそれぞれ有意に高値であった(尿 8-OHdG:p<0.05、尿 AOPP:p<0.05)(図 2)。在胎週数で補正したところ、生後 5-7 日、生後 19-21 日の CO-Hb 値が中等症～重症 BPD の有意な危険因子であった(p<0.05)。

出生後早期の CO-Hb 値上昇は酸化ストレスによるヘムオキシゲナーゼ 1(HO-1)誘導を反映しているものと推察され、中等度以上の BPD 発症を予測する生体マーカーとして有用である可能性が示唆された。

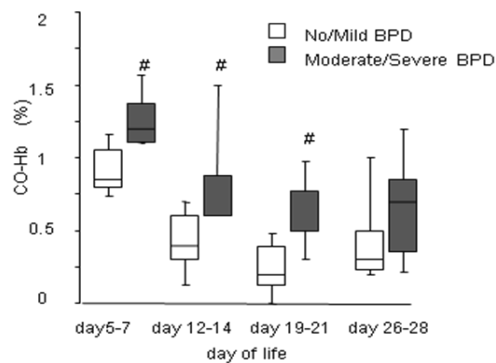


図 1

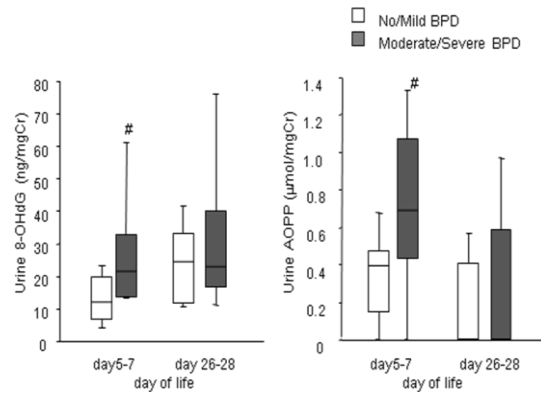


図 2

## (2) 早産児における Met-Hb 値と BPD の関連性についての検討

在胎 32 週以下で出生した早産児における Met-Hb 値は BPD 発症の有無による有意差を認めなかった。また、血中・尿中 NO2-/NO3-、ADMA を同時に測定したが、BPD 発症の有無による有意差を認めなかった。

## (3) 慢性肺疾患ハイリスク児の栄養評価

慢性肺疾患発症リスクの高い超早産児におけるビオチン・カルニチン欠乏の危険性を評価するために、出生 7 日前後から修正 40 週まで経時的に濾紙血遊離カルニチン、C5-OH アシルカルニチン、尿 3-ヒドロキシイソ吉草酸(3-HIVA)をタンデム質量分析法、ガスクロマトグラフィー質量分析法にてそれぞれ測定した。血清、濾紙血の早産児の遊離カルニチンは正期産児よりも有意に低かったが、修正週数とともに増加した。C5-OH アシルカルニチンと尿中 3-HIVA はいずれも正期産児では非常に低いレベルであったが、早産児では修正週数とともに増加した。C5-OH アシルカルニチンと尿中 3-HIVA の高値は、わが国の低出生体重児用調整粉乳で主に保育される超早産児における慢性的なビオチン欠乏症を示唆すると考えた。

## 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2件)

(1) Tokuriki S, Hayashi H, Okuno T, Yoshioka K, Okazaki S, Kawakita A, Ohta G, Hata I, Shigematsu Y, Ohshima Y. Biotin and carnitine profiles in preterm infants in Japan. *Pediatr Int.* 2013 (in press) (doi:10.1111/ped.12053) 査読有

(2) Kawakita A, Shirasaki H, Yasutomi M, Tokuriki S, Mayumi M, Naiki H, Ohshima Y. Immunotherapy with oligomannose-coated liposomes ameliorates allergic symptoms in a murine allergy model. 2012 Mar;67(3):371-9. 査読有

〔学会発表〕(計2件)

(1) 徳力周子, 河北亜希子, 巨田元礼, 重松陽介, 大嶋勇成. 早産児におけるピオチン・カルニチンの潜在的欠乏についての検討. 第48回日本周産期新生児医学会学術集会. 2012年7月8~10日. さいたま市

(2) 徳力周子, 河北亜希子, 米谷博, 川谷正男, 畑郁江, 大嶋勇成. 当院における超低出生体重児の発達予後. 第25回北陸周産期新生児研究会. 2011年10月16日. 金沢市

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

徳力 周子 (TOKURIKI SHUKO)

福井大学・医学部・助教

研究者番号: 60510237