

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 28 日現在

機関番号：86202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860847

研究課題名(和文) 新生児低酸素性虚血性脳症に対する新規追加治療の研究

研究課題名(英文) Additional new therapy for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy

研究代表者

神内 済 (Jinnai, Wataru)

独立行政法人国立病院機構四国こどもとおとなの医療センター(臨床研究部(成育)、臨・小児科・医師)

研究者番号：10595929

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、低酸素性虚血性脳症(HIE)の低体温療法(HT)に追加する新規治療法の開発である。HTの治療不応例の選別方法を確立するため、新生仔豚仮死モデルを用いて、低酸素虚血負荷後のHT中の脳波抑制時間、脳血液量(CBV)と、病理学的組織障害の関係を調べた。その結果、平温療法群では脳波抑制時間が長いものは脳血液量増加が大きかったのに対し、HT群では脳波抑制時間が長いものは脳血液量低下が大きかった。生後早期の脳波とCBVの評価により、HT治療中においてもHT治療不応例を選別することが可能で、そのような症例に対し新規治療法を適応することで、HIEの予後改善に大いに寄与できると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The aim of study is to develop additional new therapy following hypothermia (HT) for hypoxic ischemic encephalopathy (HIE). To classify the HIE neonates who cannot be improved by only HT, we examined the relationship between changes in cerebral blood volume (CBV) and the low amplitude-integrated electroencephalography (LAEEG) duration during hypothermia in asphyxiated piglets using time-resolved spectroscopy (TRS) and EEG. The following results had been reported. There was a positive linear correlation between changes in CBV and LAEEG duration within 24h after HI insult during normothermia. Otherwise, during HT, there was a negative linear correlation between them within 24h after insult. Since, we may be able to identify HIE neonate with risk factors for poor prognosis during HT requiring additional therapy due to evaluating change in both CBV and neural activity using TRS and EEG.

研究分野：新生児医療

キーワード：新生児低酸素性虚血性脳症 脳血液量 脳波 新生児仮死 低体温療法 新生仔豚 新生児脳症 脳組織ヘモグロビン酸素飽和度

1. 研究開始当初の背景

新生児仮死およびそれに伴う新生児低酸素性虚血性脳症(HIE)は、周産期脳障害の原因として重要であるが、その治療法に決定的なものはない。日本の年間出生数は100万人程であるが、そのうち2000人に新生児仮死を認め、400人が脳性麻痺となる。これは日本の脳性麻痺の原因の20%を占める。脳性麻痺患儿が寝たきりの場合、児のサポートのため家族の24時間の献身的な介護が必要となり、継続的社会保障があるとはいえ家族の精神的金銭的負担は決して軽くはない。しかし、HIE症例の予後を改善することにより、サポートの必要量が減りかつ、児の社会貢献も望めることから、HIE の治療予後改善は新生児医療において重要な課題である。現在の新生児蘇生法ガイドラインにおいて、新生児仮死に伴うHIEに対して軽度低体温療法 (HT) を施行することが推奨されているが、治療後の予後良好率は依然50%程度であり治療戦略の更なる改善は重要である。

我々は近赤外光時間分解分光法装置 (TRS) による新生児の脳血液量 (CBV) および脳組織ヘモグロビン酸素飽和度 (ScO₂) の測定を行い、その臨床応用の研究を行ってきた。臨床データからは、重症な新生児HIE症例では生後24~48時間におけるCBVの高値が認められた (Kusaka, et al. Brain Dev. 2013)。また、長期生存可能な新生児HIEモデルの作成に成功し、それをを用いた基礎研究も行っているが、低酸素虚血負荷後のCBVの増加が大きい症例ほど脳波所見や病理学的所見が悪いことを明らかにしている (Nakamura, et al. Brain Dev. 2012)。HT中のCBVの変化についての検討では、HT開始後6時間以降CBVは低下し、脳波抑制時間の長い重症な例ほどCBV低下が大きかった (Jinnai, et al. ASPR 2013, Abstract)。

2. 研究の目的

本研究の最終目的はHIEに対する新規治療薬の開発である。しかし、その開発の前に、「HTによる治療効果不応例」を選別し、それらに新規治療薬を施行する必要がある。このため、本研究では、「新生児HIEモデルを用い、HT中の脳循環酸素代謝評価を用いて治療効果判定を行い、HTの治療効果不応例を選別する」ことを主眼に研究を行った。

これまでの検討では、新生児HIEモデルにおいて、低酸素虚血負荷による脳波抑制時間が長いほど、負荷中のCBVの低下及び蘇生後の上昇が大きいことが見出された (Nakamura, et al. Brain Dev. 2014)。しかしHTでは、神経活動が抑制されると同時に脳の循環酸素代謝能も抑制されることから、低酸素虚血負荷により、これらが更に助長されることが予想される。本研究では「新生児HIEモデルを用いて、HTにより低酸素虚血負荷後の脳波抑制時間、CBV、ScO₂、病理学的組織障害の関係がどう変化するか」を明らかにする。

3. 研究の方法

生後24時間以内の新生児を対象とし、コントロール+平温療法 (NT) (n = 3, C-NT群)、コントロール+HT (n = 3, C-HT群)、負荷+NT (n = 10, HI-NT群)、負荷+HT群 (n = 10, HI-HT群) に分けた。全例フェンタニルとパンクロニウムを用いて全身麻酔人工呼吸管理を行った。NT群とHT群には吸入酸素濃度を2-5%に下げることによって低酸素虚血負荷を、C-HT群とHI-HT群については24時間のHTを行った。低酸素虚血負荷は、aEEG (amplitude-integrated EEG) 上で最大振幅が5 μ V未満になるよう酸素濃度を低く保ち、脳波が抑制された後20分間、心拍数が130bpm以上、平均血圧が負荷前値の60%以上となるよう酸素濃度を適宜調節した。その後

10分間さらに血圧が負荷前値の50%程度まで下がるよう酸素を減らした。途中脳血液量を指標として、負荷の程度の均一化を行った。負荷後24時間まで、aEEG、脳血液量を持続記録した。負荷24時間後、低体温療法中止後、全身麻酔を中止し抜管、5日間の飼育を行いその間の行動評価を行った。飼育5日目に十分な麻酔のもと左心室からホルマリン溶液による還流を行い、脳（大脳皮質白質、灰白質、海馬、小脳）、心臓、肺、腸管、肝臓、脾臓、腎臓の固定を行った。ホルマリン固定後、病理学的評価を行った。

4 . 研究成果

CBVは、HI-NTとHI-HT群において負荷後0から1時間にかけて上昇、その後低下し、負荷後0時間からの低下幅はHI-HT群で大きかった。脳波抑制時間とCBV低下は、HI-NT群では負荷後1、3、6、12時間で正の相関、HI-HT群では負荷後6、12時間で負の相関関係を示した。ScO₂については、脳波抑制時間との相関は認めなかった。病理学的脳障害については、大脳皮質白質、灰白質で、HI-HTはHI-NTに対して障害度が軽減している傾向を認めた。また、肝臓については、HI-HT群では、HI-NT群に比べ、門脈域周囲の脂肪蓄積が少なく、HTにより脂肪蓄積が抑制されたものと推測された。

これらの結果より、HT中の脳波抑制時間が長い、つまり神経活動が強く抑制されるような低酸素虚血後のダメージを受けた中枢神経系では、CBV低下が大きく、HTによる予後改善効果が期待できない。この脳波とCBVを用いたHTの効果判定方法により、HT治療効果不能例を選別可能となることが予想され、これらの症例に対して、新規治療薬を施行していくことで、HIEの予後改善に大いに寄与されると考えられた。今後、臨床においても、HT中のCBV

変化モニタリングを行い、動物実験結果と同様の結果が得られるかを検証していく予定である。

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）

Nakamura M, Jinnai W, Hamano S, Nakamura S, Koyano K, Chiba Y, Kanenishi K, Yasuda S, Ueno M, Miki T, Hata T, Kusaka T.

Cerebral blood volume measurement using near-infrared time-resolved spectroscopy and histopathological evaluation after hypoxic-ischemic insult in newborn piglets.

International Journal of Developmental Neuroscience. 査読有 42:1-9, 2015.

DOI:10.1016/j.ijdevneu.2015.02.009.

Kubo H, Shimono R, Nakamura S, Koyano K, Jinnai W, Yamato S, Yasuda S, Nakamura M, Tanaka A, Fujii T, Kanenishi K, Chiba Y, Miki T, Kusaka T, Ueno M.

Hypoxic-Ischemic Encephalopathy - Associated Liver Fatty Degeneration and Effects of Therapeutic Hypothermia in Newborn Piglets. Neonatology. 査読有111:203-210, 2016.

DOI: 10.1159/000450721

〔学会発表〕（計6件）

神内済, 中村信嗣, 濱野聡史, 若林誉幸, 小谷野耕佑, 加藤育子, 安田真之, 中村信, 日下隆.

新生仔豚仮死モデルにおける脳循環変化パターンの負荷前後の関連. 第50回日本周産期・新生児医学会学術総会. 2014.07. シェラトングランドトーキョーベイホテル(千葉県・浦安市).

濱野聡史, 中村信, 神内済, 中村信嗣, 小谷野耕佑, 安田真之, 岩瀬孝志, 岡田仁, 日下隆.

新生仔豚を用いた低酸素虚血負荷後超早期における脳循環変化と病理学的脳障害の関係. 第50回日本周産期・新生児医学会学術総会. 2014.07. シェラトングランドトーキョーベイホテル(千葉県・浦安市).

小谷野耕佑, 有岡誠, 喜多條真穂, 新居広一郎, 若林誉幸, 近藤健夫, 神内済, 中村信嗣, 安田真之, 日下隆.

脳循環指標を用いた早産児貧血における輸血療法基準作成の検討. 第59回日本未熟児新生児学会・学術集会. 2014.11. ひめぎんホール(愛媛県・松山市)

安田真之, 濱野聡史, 神内済, 中村信嗣, 小谷野耕佑, 中村信, 岩瀬孝志, 岡田仁, 日下隆.

新生仔豚仮死モデルを用いた脳循環、脳代謝の基礎的検討(第5報). 第118回日本小児科学会学術集会. 2015.04. 大阪国際会議場(大阪府・大阪市).

安田真之, 荻田博也, 若林誉幸, 濱野聡史, 神内済, 小谷野耕佑, 中村信, 日下隆.

新生仔豚仮死モデルを用いた脳循環、脳代謝の基礎的検討 負荷中の脳内ヘモグロビンの変化. 第51回日本周産期・新生

児学会学術集会. 2015.07. ヒルトン福岡シーホーク(福岡県・福岡市).

久保裕之, 下野隆一, 田中彩, 神内済, 濱野聡史, 小谷野耕佑, 安田真之, 日下隆.

新生仔豚を用いた新生児低酸素性虚血性脳症モデルにおける肝障害の病理組織学的検討. 第51回日本周産期・新生児学会学術集会. 2015.07. ヒルトン福岡シーホーク(福岡県・福岡市).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神内 済 (JINNAI Wataru)

独立行政法人国立病院機構四国子どもとおとなの医療センター・臨床研究部(成育)・新生児内科医師

研究者番号: 10595929