

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2007 ～ 2008
課題番号：	19591289
研究課題名(和文)	早期新生児期における酸素毒性・活性酸素傷害に対する耐性と在胎週数との関連について
研究課題名(英文)	The assessment of oxygen toxicity in early postnatal life and its relationship with gestational age in preterm infants
研究代表者	
	荻原 享 (Ogihara Tohru)
	大阪医科大学・医学部・講師
	研究者番号： 00211128

研究成果の概要:早産新生児の酸化ストレスの程度が、在胎週数の低下に応じて強くなるのか、ある週数を境に酸化ストレスの程度が軽くなるのか、さらにはたとえ満期成熟新生児でも酸素投与などの酸化ストレスに対しては早産新生児と同様に脆弱であるのか、こうした fundamental な疑問に答えるべく、臍帯血、生後約3-5日、および約7-10日の3点での血漿検体を利用して、脂質過酸化生成物とアミノ酸酸化生成物をGC-MS法によって測定した。その結果、出生後2週間までの短期間に限れば、酸化ストレスの程度は、①吸入酸素分圧とは直接関連しないが、積算酸素投与量と有意に相関し、②在胎週数とは逆相関の関係にあることが判明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	1,800,000	540,000	2,340,000
20年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

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：(1)早産低出生体重児 (2)酸化ストレスマーカー (3) 酸素毒性
(4) dityrosine (5) HODE

1. 研究開始当初の背景
新生児期における、「酸素毒性あるいは酸化ストレス」といった言葉に対する一般的な認

識は、「低酸素環境下で育った胎児は出生と同時に相対的な高濃度酸素環境である子宮外へ突然放り出されるので、たとえ21%酸

素下でもある程度の酸化ストレスは避けがたく、それに対応すべく胎児は胎内から子宮外生活に向けた準備を始める。そのため、その途上で子宮外生活を余儀なくされた早産児は、酸化ストレス防御の視点から見ると圧倒的に不利である。ただ、たとえ早産出生に至ったとしても、時間経過と共に酸化に関わる種々の遺伝子を活性化させることによって徐々に21%酸素環境に適応していくに違いない。」といったような負のイメージを基調としたものであろう。だが、果たしてこれは真実だろうか？ 少なくとも現時点では、その根拠となる臨床データは決定的に不足しているといわざるを得ない。さらには、ここ数年、「たとえ成熟新生児においても出生時の蘇生には酸素を使うべきではない」という主張が非常な速度をもって世界を席卷しつつある。ましてや、早産児に対する酸素投与など何をかいわんや。しかしながら、高濃度酸素投与によって、早産児も含めて新生児がどういった悪影響を蒙るのか、明確に示したデータは実際のところほとんど見当たらない。抗酸化物質といってもその種類は様々だが、動物実験も含めて胎内からの変化については、一連の抗酸化酵素とよばれる酵素群についてのデータが散見されるのみである。(すべての動物種を視野に入れてもたかだか20報足らずに過ぎないが)。それによると、ヒトを含めてほとんどの酵素が出生に備えて上昇しているようであるが、baboonでのCuZn-SOD活性は出生時には胎内の1/3にまで減少しているという報告もある。さらに、出生後のデータとなると、報告はさらに少なくなるが、ratでは早産出生仔も含めて生後さらに上昇するようだが、rabittでは早産では誘導がかからず、さらに霊長類であるbaboonではほとんどの酵素がその活性をさらに低下させるという結果が得られてい

る。抗酸化能力は、抗酸化酵素だけでなくビタミンC、Eなどの低分子抗酸化物質や、金属キレートなど多くの物質が連携して酸化ストレスに対応する総合力で評価すべきであるが、残念ながら現時点では生体内での総合的な抗酸化能力を的確に反映する測定方法は存在しない。ストレスによる傷害の程度は抗酸化防御能の強さだけではなく、ストレスの強さとのバランスで決定される。その意味では、種々の酸化ストレスマーカーと呼ばれる一連の物質は結果的にそのバランスを反映しているため、酸化ストレスがゼロでない限り、実際に酸化ストレスにどのくらい対応しているかを最終的に示しているとも考えられる。我々は以前より、主に慢性肺疾患児、新生児仮死児を対象として、種々のストレスマーカーの上昇を報告してきたが、在胎週数に応じた、特定の疾患に限定されない大規模なstudyは未だに存在しない。

そもそも、地球の歴史を振り返れば、地表の酸素濃度は大きな変動を繰り返しており、我々哺乳類の祖先も、3億年前の二畳紀の35%にもおよぶ高濃度酸素の時期や、その反動として現れたジュラ紀の10%低濃度酸素の時代も生き抜いてきた。われわれの体の中にもその記憶が眠っているはずである。低濃度酸素環境におけるhypoxia inducible factorの存在は広く認識されているが、高濃度酸素については今のところセンサーもはっきりしないし、hyperoxia inducible factorの候補も知られていない。酸素に対する適応というものはそれほど単純自明のことではないのである。

2. 研究の目的

酸化ストレスの程度が、実際に在胎週数の低下に応じて強くなるのかどうか、また、もし

それが真実であるとしても、ある週数を境に酸化ストレスの程度が軽くなるのか、あるいは、たとえ満期成熟新生児でも、酸素投与などの酸化ストレスに対しては早産新生児と同様に脆弱であるのか、について、最先端の酸化ストレスマーカーを駆使して検討する。さらに、満期成熟新生児であっても、たとえ分の酸素使用でもやはり避けるべきなのか、あるいは、酸素の一時使用について厳重な注意を払うべき臨界となる週数があるのか、等について、再検討する際の根拠となるデータを提供する。

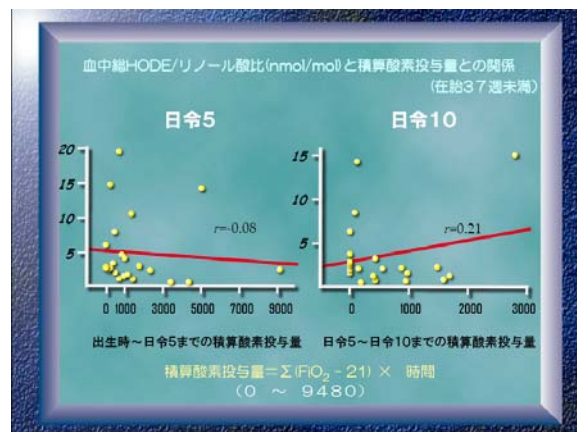
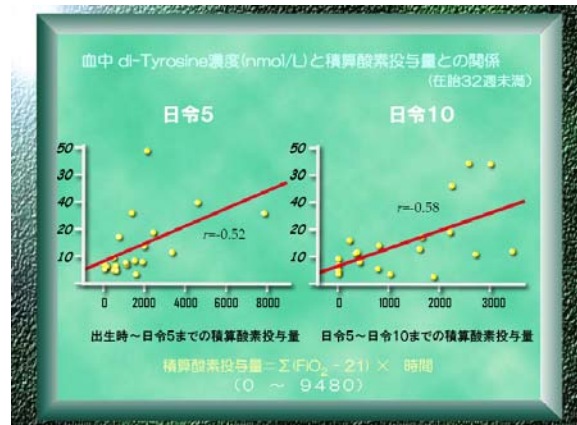
3. 研究の方法

約 1500 検体に及ぶ、在胎 24 週から満期までの臍帯血および生後 10 日以内の新生児から得た保存血清サンプルを用いて、臍帯血、生後約 3-5 日、および約 7-10 日の 3 点で、脂質過酸化生成物として、リノール酸より生じるヒドロキシリノール酸 (HODE) と、アラキドン酸より生じるイソプロスタニン (8-iso-PGF₂α) を、またアミノ酸酸化生成物として、フェニルアラニンが hydroxyl radical の攻撃を受けた際に生じる安定生成物 ortho-Tyrosine および meta-Tyrosine、および tyrosine 自身の酸化生成物 dityrosine を GC-MS 法によって測定し、酸化ストレスと関連あるほかの因子—胎内感染、感染兆候、呼吸器設定、栄養状態など—を含めて多変量解析を行い、酸素が有意な因子として残るかどうかを確認する。

4. 研究成果

最終的な結果は、詳細な統計解析終了後に公表予定であるが、現時点での暫定的な結論は次の如くである。すなわち、出生後 2 週間までの短期間に限れば、酸化ストレスの程度は、

①吸入酸素分圧とは直接関連しないが、積算酸素投与量と有意に相関する、②在胎週数とは逆相関の関係にある。また、いずれの場合も、脂質酸化ストレスマーカーよりは、タンパク酸化の指標である dityrosine の場合に、より顕著な関連性が見られる。



また、さらに大きな成果は、現在最も信頼のおける酸化ストレスマーカーの一つである dityrosine が、特に在胎 28 週未満の超早産児において、日令と共に急激に上昇し、在胎 32 週以上の新生児と比較して、dityrosine/tyrosine 比が、10~50 倍に及ぶことが判明したことである。この現象は、超早産児に特有で、28 週以上の児では、酸素投与等の負荷の程度に関わらず、ほとんど上

昇しない。この事実は、28週未満では酸素等の酸化ストレスに対して脆弱であることを証明すると同時に、その週を超えると、たとえ満期でなくても、酸化ストレスに十分に対応する能力があることも示している。

最終的に、酸化ストレスと関連あるほかの因子—胎内感染、感染兆候、呼吸器設定、栄養状態など—を含めて多変量解析を行い、酸素が有意な因子として残るかどうかを確認する予定である。

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)

1) Masashi Hasegawa, Tohru Ogihara, Hiroshi Tamai, and Mayo Hiroi

Hypothermic inhibition of apoptotic pathways for combined neurotoxicity of iron and ascorbic acid in differentiated PC12 cells: reduction of oxidative stress and maintenance of the glutathione redox state

Brain Research 2009 in press

査読あり

2) 荻原 享、大植慎也
Antenatal primingによるCLDの重症化
周産期医学 39:750-760, 2009

査読なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荻原 享 (Ogihara Tohru)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：00211128

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

吉田 康一 (Yoshida Yasukazu)
産業技術総合研究所・ストレスシグナルチーム・リーダー
研究者番号：90358333