

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08341

研究課題名(和文) 妊娠高血圧症候群に起因するSGAの慢性肺疾患の重症化機序解明と新規治療法開発

研究課題名(英文) Elucidation of severe mechanism and development of novel therapy against chronic lung disease in SGA infants caused by pregnancy induced hypertension

研究代表者

早川 昌弘 (HAYAKAWA, MASAHIRO)

名古屋大学・医学部附属病院・病院教授

研究者番号：40343206

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)：本研究では動物モデルを用いて、子宮内発育遅延(FGR)における新生児慢性肺疾患(CLD)の病態および重症化機序解明を、FGRモデルではないCLDモデルと比較検討することで行った。呼吸機能評価においては、FGRにおける明らかなCLDの重症化を認めなかったが、組織学的評価においては、今までの疫学研究と同様のFGRにおいてCLDが重症化する可能性を示唆する結果を得た。プロテオミクス解析の結果からは、FGRにおいてCLDが重症化する機序として、酸化ストレスが増強している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児期の血流障害による肺組織障害が、出生後の酸素暴露に対して酸化ストレスをより増強させる可能性が明らかとなり、新たな治療戦略の礎となる可能性が示唆された。本研究の成果は周産期医療の最終目標である「後遺症なき生存」の達成に大きく寄与する基礎研究である。また、本研究の成果は患者本人の予後改善のみならず、家族負担の軽減や医療費抑制などの社会的負担の軽減につながり医療的/社会的に多大な波及効果をもたらすものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we used an animal model to elucidate the pathogenesis and mechanism of severity of neonatal chronic lung disease (CLD) in fetal growth restriction (FGR), comparing it with a non-FGR of CLD. Respiratory function evaluation did not reveal any clear evidence of CLD severity in FGR, but histological evaluation suggested that CLD may be more severe in FGR, similar to previous epidemiological studies. Proteomic analysis suggested that oxidative stress may be an enhanced mechanism of CLD severity in FGR.

研究分野：新生児学

キーワード：胎児発育不全 新生児慢性肺疾患

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

新生児慢性肺疾患 (CLD) は早産児の代表的な合併症の1つであり、重症例では青年期まで至る肺機能障害が問題となる。現状では根本的な治療法はなく、発症予防・重症化予防に重きが置かれている。一方、在胎期間に比して体格が小さく出生した児 (SGA) の原因は様々であるが、妊娠中期発症の重症妊娠高血圧症候群 (HDP) が原因のSGA (HDP-SGA) の多くは胎児機能不全に陥り早産出生を余儀なくされる。また、HDP-SGAでは標準体格で出生した児 (AGA) に比べて重症CLD合併の頻度が高いことが報告されている (Hansen AR. *JPediatr* 2010, Ozakan H. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012)。しかしながら、過去の報告は疫学研究のみであり、その病態や重症化機序は十分に解明されておらず、有効な治療法についても確立されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的はモデル動物を用いてAGAと比較検討することでHDP-SGAにおけるCLD (HDP-SGA-CLD) の病態および重症化機序を解明し、AGAのCLDに比べて重症化するHDP-SGA-CLDにターゲットを絞った新規治療開発の可能性の糸口を見出すことである。

3. 研究の方法

(1)モデル作成

HDP-SGAでは子宮内で血流障害を認めることに着目し、胎児期の血流障害による肺組織障害、胎児期の低栄養による肺組織成熟の阻害がCLDの重症化機序の重要な因子と仮説をたてた。よって、HDP-SGAで見られる子宮内での血流障害を模倣する軽度の子宮内低灌流による子宮内発育遅延モデル (FGR) を用いた。妊娠17日目のSDラットの両側子宮動脈および卵巣動脈に長さ2.5mm、直径0.24mmのマイクロコイルを装着して血流制限を起こし、軽度の子宮内低灌流によるFGRモデルを作成した (Ohshima M. *Sci Rep* 2016)。生後1日目の体重が6.5g未満であった新生児仔ラットをFGRと定義し、体重6.5g以上であった新生児仔ラットは研究対象から除外した。生後1日目から生後15日目まで83%の高濃度酸素チャンバー内で飼育することにより高濃度酸素暴露によるCLDモデルを作成 (FGR-CLD) し、同時に作成した子宮内低灌流モデルではないCLDモデル (Sham-CLD) と比較検討を行った。

(2)呼吸機能評価

高濃度酸素暴露終了直後の生後15日目に、無拘束呼吸機能解析装置 (whole body plethysmography) を用いて呼吸機能検査を実施し、1回換気量および分時換気量を評価した。

(3)右心負荷評価

生後4週目に心臓を採取し、心臓を右室と左室+心室中隔に分離した後、48時間乾燥させた後に重量 (乾燥心臓重量) を測定した。左室+心室中隔に対する右室の重量の割合 (右室と左室+心室中隔比) を算出した。

(4)組織学的評価

生後4週目に肺組織を採取し、パラフィン切片作製後HE染色を行い、組織対密度を評価した。25 μ m間隔で10 \times 10の交点 (計100個) を選び、肺組織・肺胞内部・その他 (気管・血管) に区別し、肺組織の割合を算出した。

(5)生化学的評価

高濃度酸素暴露終了直後の生後15日目に肺組織を採取し、液体クロマトグラフ質量分析計を用いて全タンパク質の存在量を測定することで、タンパク質のプロファイルを取得した。取得したプロファイルに対して統計解析を行い、高濃度酸素暴露によるタンパク質の変動に関して、Sham-CLDとの比較においてFGR-CLDで有意に変動を認めるタンパク質を抽出した。

(6)統計解析

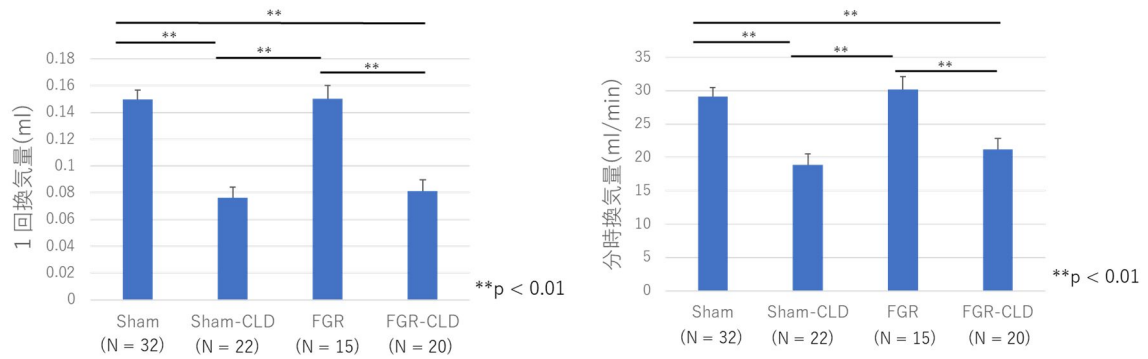
統計処理法にはTukey-Kramer検定を用い、p値0.05未満を有意差とした。タンパク質のプロファイルに対する統計解析にはSteel-Dwass検定を用いた。

4. 研究成果

(1)呼吸機能評価

高濃度酸素暴露終了直後の生後15日目に実施した呼吸機能検査では、CLDモデルでは非CLDモデルと比較して統計学的に有意な1回換気量や分時換気量の低下を認めた (p < 0.01: Sham-CLD群 vs. Sham群およびFGR群、p < 0.01: FGR-CLD群 vs. Sham群およびFGR群)。しかし、Sham-CLD群とFGR-CLD群の間に統計学的に有意な差は認めなかった (図1)。

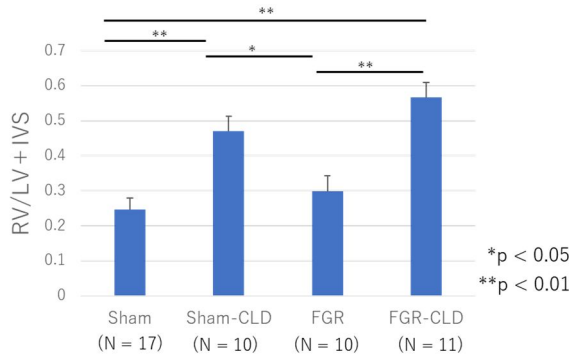
図 1



(2)右心負荷評価

生後 4 週目に採取した心臓による乾燥心臓重量比（右室と左室+心室中隔比）は、CLD モデルでは非 CLD モデルと比較して右室と左室+心室中隔比の統計学的に有意な増加を認めた ($p < 0.01$: Sham-CLD 群 vs. Sham、 $p < 0.05$: Sham-CLD 群 vs FGR 群、 $p < 0.01$: FGR-CLD 群 vs. Sham 群および FGR 群)。しかし、Sham-CLD 群と比較して FGR-CLD 群でわずかに増加する傾向を認めたが、統計学的に有意な差には至らなかった (図 2)。

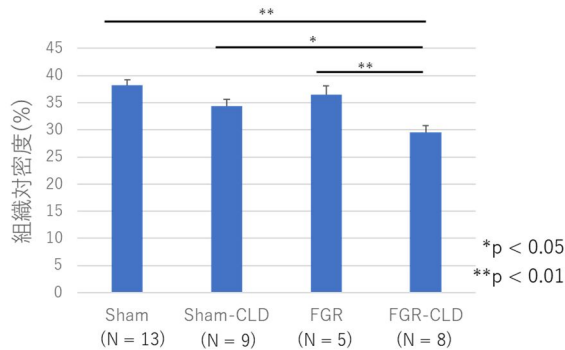
図 2



(3)組織学的評価

生後 4 週目に採取した肺組織による組織対密度は、Sham-CLD 群では Sham 群および FGR 群と比較して組織対密度が低下する傾向を認め、FGR-CLD 群では Sham 群および FGR 群と比較して統計学的に有意な組織対密度の低下を認めた ($p < 0.01$: FGR-CLD 群 vs. Sham 群および FGR 群)。さらに、FGR-CLD 群では Sham-CLD 群との比較においても統計学的に有意な組織対密度の低下を認めた ($p < 0.05$: FGR-CLD 群 vs. Sham-CLD 群) (図 3)。

図 3



(4)生化学的評価

高濃度酸素暴露終了直後の生後 15 日目の肺組織におけるタンパク質の網羅的解析では、高濃度酸素暴露によるタンパク質の変動の検討を行い、FGR-CLD において、酸化ストレスに対する反応と関連するタンパク質に有意な変動を認めた（表 1）。

表 1

Gene symbol	Description
<i>Prdx5</i>	Peroxiredoxin-5, mitochondrial

呼吸機能評価においては、CLD モデルでは非 CLD モデルと比較して 1 回換気量や分時換気量の有意な低下を認めたものの、Sham-CLD と FGR-CLD との間に有意な差は認めず、呼吸機能評価による FGR における明らかな CLD の重症化を示唆する所見は認めなかった。しかし、右心負荷評価では、Sham-CLD と比較して FGR-CLD で右心負荷が増加する傾向を認め、組織学的評価においては、Sham-CLD と比較して FGR-CLD において組織対密度の有意な低下を認め、組織学的には今までの疫学研究と同様の FGR において CLD が重症化する可能性を示唆する結果を得た。プロテオミクス解析の結果から、FGR において CLD が重症化する機序として、酸化ストレスに対する反応と関連するタンパク質に有意な変化を認め、胎児期の血流障害による肺組織障害が、出生後の高濃度酸素暴露に対して酸化ストレスを増強させる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ushida Takafumi, Moriyama Yoshinori, Nakatochi Masahiro, Kobayashi Yumiko, Imai Kenji, Nakano Kobayashi Tomoko, Nakamura Noriyuki, Hayakawa Masahiro, Kajiyama Hiroaki, Kotani Tomomi, for the Neonatal Research Network of Japan	4. 巻 6
2. 論文標題 Antenatal prediction models for short and medium term outcomes in preterm infants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica	6. 最初と最後の頁 1089-1096
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/aogs.14136	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Noriyuki, for the Neonatal Research Network of Japan, Ushida Takafumi, Nakatochi Masahiro, Kobayashi Yumiko, Moriyama Yoshinori, Imai Kenji, Nakano-Kobayashi Tomoko, Hayakawa Masahiro, Kajiyama Hiroaki, Kikkawa Fumitaka, Kotani Tomomi	4. 巻 11
2. 論文標題 Mortality and neurological outcomes in extremely and very preterm infants born to mothers with hypertensive disorders of pregnancy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1729
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-81292-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ushida Takafumi, Kotani Tomomi, Sadachi Ryo, Hirakawa Akihiro, Hayakawa Masahiro, Moriyama Yoshinori, Imai Kenji, Nakano-Kobayashi Tomoko, Kikkawa Fumitaka, for the Neonatal Research Network of Japan	4. 巻 135
2. 論文標題 Antenatal Corticosteroids and Outcomes in Preterm Twins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Obstetrics & Gynecology	6. 最初と最後の頁 1387-1397
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/AOG.0000000000003881	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Toshihiko, Sato Yoshiaki, Yamamoto Hidenori, Kato Taichi, Kitase Yuma, Ueda Kazuto, Mimatsu Haruka, Sugiyama Yuichiro, Onoda Atsuto, Saito Shigeki, Takahashi Yoshiyuki, Nakayama Takayuki, Hayakawa Masahiro	4. 巻 22
2. 論文標題 Mesenchymal stem/stromal cells stably transduced with an inhibitor of CC chemokine ligand 2 ameliorate bronchopulmonary dysplasia and pulmonary hypertension	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cytotherapy	6. 最初と最後の頁 180-192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcyt.2020.01.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitase Yuma, Sato Yoshiaki, Ueda Kazuto, Suzuki Toshihiko, Mikrogeorgiou Alkisti, Sugiyama Yuichiro, Matsubara Kohki, Tsukagoshi Okabe Yuka, Shimizu Shinobu, Hirata Hitoshi, Yukawa Hiroshi, Baba Yoshinobu, Tsuji Masahiro, Takahashi Yoshiyuki, Yamamoto Akihito, Hayakawa Masahiro	4. 巻 29
2. 論文標題 A Novel Treatment with Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth for Hypoxic-Ischemic Encephalopathy in Neonatal Rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Stem Cells and Development	6. 最初と最後の頁 63-74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/scd.2019.0221	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitase Yuma, Sato Yoshiaki, Arai Sakiko, Onoda Atsuto, Ueda Kazuto, Go Shoji, Mimatsu Haruka, Jabary Mahboba, Suzuki Toshihiko, Ito Mihar, Saito Akiko, Hirakawa Akihiro, Mukai Takeo, Nagamura-Inoue Tokiko, Takahashi Yoshiyuki, Tsuji Masahiro, Hayakawa Masahiro	4. 巻 14
2. 論文標題 Establishment of a Novel Fetal Growth Restriction Model and Development of a Stem-Cell Therapy Using Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stromal Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2020.00212	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishiguro T, Sugiyama Y, Ueda K, Muramatsu Y, Tsuda H, Kotani T, Michigami T, Tachikawa K, Akiyama T, Hayakawa M	4. 巻 41
2. 論文標題 Findings of amplitude-integrated electroencephalogram recordings and serum vitamin B6 metabolites in perinatal lethal hypophosphatasia during enzyme replacement therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Dev	6. 最初と最後の頁 721-725
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2019.03.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 坂口 陽子, 城所 博之, 鈴木 健史, 川口 将宏, 牧 祐輝, 田中 雅大, 岡井 佑, 伊藤 祐史, 山本 啓之, 中田 智彦, 伊藤 美春, 佐藤 義朗, 早川 昌弘, 夏目 淳
2. 発表標題 早産児の修正40週での安静時機能的MRIと発達予後
3. 学会等名 第61回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野田 淳人, 北瀬 悠磨, 辻 雅弘, 早川 昌弘, 佐藤 義朗
2. 発表標題 胎児発育遅延モデルラットにおける脳脊髄液中タンパク質の網羅的解析
3. 学会等名 第55回日本周産期・新生児医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田 一仁, 佐藤 義朗, 鈴木 俊彦, 小野田 淳人, 三浦 良介, 呉 尚治, 見松 はるか, 北瀬 悠磨, 辻 雅弘, 早川 昌弘
2. 発表標題 Multilineage-differentiating stress enduring cell製剤の新生児低酸素性虚血性脳症への治療効果の検討
3. 学会等名 第55回日本周産期・新生児医学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔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
研究分担者	佐藤 義朗 (Sato Yoshiaki) (30435862)	名古屋大学・医学部附属病院・講師 (13901)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	奥村 彰久 (Okumura Akihisa) (60303624)	愛知医科大学・医学部・教授 (33920)	
研究分担者	鈴木 俊彦 (Suzuki Toshihiko) (60711083)	名古屋大学・医学部附属病院・病院助教 (13901)	

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