

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462480

研究課題名(和文) 超低出生体重児の消化管成熟に向けた治療戦略：肺サーファクタントを用いた動物実験

研究課題名(英文) A treatment strategy for the gastrointestinal development of extremely premature infants by administration of micelles derived from pulmonary surfactants and the vernix caseosa in pregnant rabbits

研究代表者

西島 浩二 (Nishijima, Koji)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・講師

研究者番号：80334837

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：羊水中に存在する肺サーファクタントの体内動態を検討するために、SIB法を用いて¹²⁵I標識放射性肺サーファクタント(STA)を合成し、妊娠ウサギ羊水腔内に投与した。¹²⁵I標識STAは、投与後30分で母体血中に移行し、大部分は尿から排出された。また、¹²⁵I標識STAは、投与胎仔とそれ以外の胎仔の全臓器に分布し、特に、胃、胃液、腸管への集積率が高値であった。出生直後の新生児の消化管に高濃度の肺サーファクタントが存在することは、新生児の免疫能獲得の過程を考える上で興味深い。本研究を更に進めることにより、ヒトの発生段階における肺-皮膚-消化器間の相互作用の解明がなされることを期待する。

研究成果の概要(英文)：We prepared ¹²⁵I-labeled bovine pulmonary surfactant TA (STA; Mitsubishi Tanabe Pharma Corp., Osaka, Japan) using ¹²⁵I-Succinimidyl-3-iodobenzoate. We then infused the ¹²⁵I-labeled STA into the amniotic fluid space of pregnant Japanese white rabbits on gestational day 27 (right-ovarian-end fetuses). The ¹²⁵I-labeled STA were transferred to maternal blood at 30 minutes post-dose, and most were excreted in the urine. The ¹²⁵I-labeled STA were also transferred to all internal organs of all fetuses, and especially, highly accumulated at fetal stomach, gastric juices, and intestine. We speculate that the existence of highly-concentrated pulmonary surfactants in the neonatal gastrointestinal tracts just after the birth is important for neonatal immunocompetence acquisition processes. Although further studies are needed, our findings elucidate the physiological interactions among pulmonary, dermal-epidermal, and gastrointestinal developmental processes.

研究分野：周産期医学

キーワード：肺サーファクタント 胎脂 ミセル 壊死性腸炎 超低出生体重児

1. 研究開始当初の背景

妊娠後期には、羊水に急激に濁りが生じる¹⁾。報告者は、この羊水の濁りは、肺サーファクタントが胎脂を取り囲んで“分子集合体ミセル”を形成し、羊水中に分散するための現象であることを明らかにした^{2), 3)}。出生時に胎児の保護フィルムとして働くはずの胎脂が、出生前に皮膚から剥がれ落ちるという事実は、胎脂がそれ以外の役割を担う可能性を示唆する。一方、乳汁中の主要なエネルギー源である長鎖脂肪酸は腸管内で胆汁酸と反応し、ミセル構造をとることで消化管から吸収される。

本研究は、胎児が嚥下する羊水と、新生児が摂取する母乳の両者に、“分子集合体ミセル”が存在するという共通点に着目し、超早産児の初期管理に有用な経腸栄養剤の開発を目的に立案された。

これまでの研究により、肺サーファクタント製剤(サーファクテン®: STA, 田辺三菱製薬株式会社)とヒト胎脂を用いて作成した STA ミセル溶液(特許第 4378531 号)は、*in vivo*の実験系において、ウサギ胎仔小腸を手術侵襲から保護し⁴⁾、ラット新生仔の壊死性腸炎発症を抑制することが示された⁵⁾。STA ミセル溶液が示すこれらの保護作用は、小腸上皮を覆うことによってもたらされると推測された。

2. 研究の目的

以前、STA ミセルに類似した構造を持つ 2 種類の蛍光標識リポソームを作成し、STA ミセルの体内動態を検証する実験を行った。ウサギ羊水腔内に投与された蛍光リポソームは、胎児に嚥下され、小腸上皮に取り込まれて強い励起光を発したが、それ以外の臓器には到達しなかった⁴⁾。

ところが、その後に行った追加実験において 50 倍量の蛍光リポソームを投与したところ、ウサギ胎仔の肝臓にまで到達する事が確認された。

本研究の目的は、¹²⁵I で標識された放射性 STA を用いて、羊水中に存在する肺サーファクタントの体内動態を、詳細かつ直接的に検証することである。

3. 研究の方法

(1) SIB 法を用いて ¹²⁵I 標識サーファクテン® (STA) を合成した。

(2) 高速液体クロマトグラフィを用いて、*in vitro*と *in vivo*での ¹²⁵I 標識 STA の安定性を評価した。

(3) 塩酸メドミジン、ミダゾラム、酒石酸ブトルファンールによる 3 種混合麻酔下に、妊娠ウサギの羊水腔内に ¹²⁵I 標識サーファクテンを投与した(右子宮卵巣端第 1 位)。60 分後 (n = 1)、12 時間後 (n = 3)、24 時間後 (n = 5)、48 時間後 (n = 3) に帝王切開

を行い、母体と胎仔の ¹²⁵I 標識 STA の体内分布を検討した。全ての実験は、福井大学動物実験委員会の承認の下、福井大学松岡キャンパス共同利用施設放射線障害予防規程に則って行われた。

4. 研究成果

(1) STA には、5 ないし 10% の Dipalmitoylphosphatidylethanolamine (DPPE) が含まれている。SIB 法により、¹²⁵I-Succinimidyl-3-iodobenzoate を用いて DPPE を標識し、STA を懸濁調整する際に ¹²⁵I-DPPE を混入することにより、¹²⁵I 標識 STA を合成した。

(2) *in vitro*での安定性評価:¹²⁵I 標識 STA は、ウサギ羊水・ウサギ血清中において、24 時間後に 95%が安定を保ち、48 時間後には 75%が安定を保った。*in vivo*での安定性評価: 投与 24 時間後に胎盤と母体血液から抽出された ¹²⁵I 標識 STA は、相当量の分解を受けていた。投与 24 時間後にウサギ羊水、胎仔胃、胃液、腸管、胎仔血液から抽出された ¹²⁵I 標識 STA は安定を保っていた。以上の結果から、¹²⁵I 標識 STA は、ウサギ羊水腔内への投与実験(実験 3)の使用条件を満たすと考えた。

(3) 羊水腔に投与された ¹²⁵I 標識 STA は、投与 30 分で速やかに母体血中に移行した。その後、母体の各臓器に移行し、大部分は尿から排出された。また、¹²⁵I 標識 STA は、投与胎仔(図 1 の)とそれ以外の胎仔群(図 1 の , , , ,)の全ての臓器に分布した。胎仔臓器別の検討では、胃、胃液、腸管への放射線集積率が特に高値となった(図 1)。

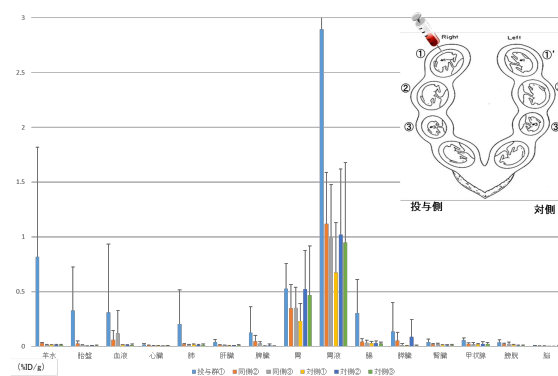


図 1. ¹²⁵I 標識 STA 投与 24 時間後の臓器分布 (n = 5)

報告者はこれまで、STA ミセル溶液の持つ未熟腸管の保護作用に着目し、研究を進めてきた。本研究で示された胃、胃液、腸管における ¹²⁵I 標識 STA(あるいは STA 由来の DPPE)の高い放射線集積率は、これまでの研究成果に矛盾しない。

近年、肺サーファクタント特異蛋白である SP-A や SP-D の生体防御機能が注目されてい

る。出生直後の新生児の腸管に高濃度の肺サーファクタントが存在することは、新生児の免疫能獲得の過程を考える上で非常に興味深い。本研究をさらに発展させることにより、羊水中に存在する肺サーファクタントと胎脂の生物学的役割が明らかとなり、ヒトの発生段階における肺-皮膚-消化器間の interaction の解明がなされることを期待する。

引用文献

- 1) Hook GE, Gilmore LB, Tombropoulos EG, Fabro SE. Fetal lung lamellar bodies in human amniotic fluid. *Am Rev Respir Dis.* 1978;117:541-50.
- 2) Nishijima K, Shukunami K, Inoue S, Kotsuji F. Management for neonatal aspiration syndrome caused by vernix caseosa. *Fetal Diagn Ther.* 2005;20:194-6.
- 3) Nishijima K, Shukunami K, Tsukahara H, Orisaka M, Miura J, Kotsuji F. Micelles of pulmonary surfactant in human amniotic fluid at term. *Pediatr Res.* 2006;60:196-9.
- 4) Nishijima K, Shukunami K, Yoshinari H, Takahashi J, Maeda H, Takagi H, Kotsuji F. Interactions among pulmonary surfactant, vernix caseosa, and intestinal enterocytes: intra-amniotic administration of fluorescently liposomes to pregnant rabbits. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2012;303:L208-14.
- 5) Nishijima K, Yoshida Y. Micelles: Structural Biochemistry, Formation and Functions & Usage. Nova Science Publishers, Inc. NY, 2103, pp.321

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 3 件)

西島浩二, 吉田好雄. 肺サーファクタントと胎脂は早産児の腸管を保護する～胎児期における肺 皮膚 消化器間相互作用の解明を目指して～. *日本肺サーファクタント・界面医学会雑誌*. 2017. 査読有

西島浩二, 吉田好雄. 超低出生体重児の消化管機能の成熟に向けた治療戦略: 肺サーファクタントと胎脂を用いた動物実験. *日本肺サーファクタント・界面医学会雑誌*. 2014;45:16-27. 査読有

西島浩二, 吉田好雄. 特集 最新版 新生児慢性肺疾患 胎児・新生児期の呼吸器系の

発達. *周産期医学*. 2014;44:1003-6. 査読無

[学会発表](計 8 件)

西島浩二. 日本肺サーファクタント・界面医学会第 52 回学術研究会「肺サーファクタントと胎脂は早産児の腸管を保護する～胎児期における肺 皮膚 消化器間相互作用の解明を目指して～」(2016.10.29, 金沢医科大学病院, 石川県河北郡)

西島浩二. 第 52 回日本周産期・新生児医学会学術集会ワークショップ「肺サーファクタントと胎脂を用いた消化管保護に向けた治療戦略」(2016.7.17, 富山国際会議場, 富山県富山市)

西島浩二. 第 68 回日本産科婦人科学会学術講演会高得点演題「肺サーファクタントと胎脂は早産児の腸管を保護する～胎児期における肺-皮膚-消化器間相互作用の解明を目指して～」(2016.4.22, 東京国際フォーラム, 東京都)

西島浩二. 第 6 回ふくい知財フォーラム「腸管機能亢進剤とこれを用いた壊死性腸炎の防止方法」(2016.3.10, 福井工業大学 2 号館, 福井県福井市)

西島浩二. 第 32 回石川県母性衛生学会・第 30 回北陸母性衛生学会学術講演会特別講演「胎脂の謎に迫る! 生まれたての赤ちゃんを包む白いベトベトの秘密」(2015.7.27, 石川県立中央病院・健康教育館, 石川県金沢市)

西島浩二. 第 25 回鶴の会学術講演会「超低出生体重児の消化管保護に向けた治療戦略: 肺サーファクタントと胎脂を用いた動物実験」(2015.3.8, ユアーズホテルフクイ, 福井県福井市)

西島浩二. 新潟産婦人科シンポジウム 2014「超低出生体重児の消化管保護に向けた治療戦略: 肺サーファクタントと胎脂を用いた動物実験」(2014.9.14, 新潟大学有壬記念館, 新潟県新潟市)

西島浩二. 第 1 回北信越産婦人科研究会「超低出生体重児の消化管保護に向けた治療戦略: 肺サーファクタントと胎脂を用いた動物実験」(2014.7.5, 片山津温泉ホテルアローレ, 石川県加賀市)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

福井大学医学部産科婦人科学教室，周産期
医学研究，研究実績

<http://sankafujinka.com/intro/reserch2.html>

6．研究組織

(1)研究代表者

西島 浩二 (NISHIJIMA, Koji)

福井大学・学術研究院医学系部門 (附属病
院部)・講師

研究者番号：80334837