

令和元年6月11日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10695

研究課題名(和文) 脳発生(大脳6層構造)から見た胎児・新生児脳障害の病態解析へのアプローチ

研究課題名(英文) An approach to pathological analysis of fetal and neonatal brain damage from the viewpoint of brain development (six layers of cerebrum)

研究代表者

下屋 浩一郎 (SHIMOYA, KOICHIRO)

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号：40291950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：周産期医療の進歩により母子の予後は飛躍的に改善されているものの新生児の脳障害は大きな課題である。本研究ではマウスを用いて新生仔のマウス大脳の免疫組織学的解析を用いて大脳の6層構造の解析および細胞移動を定量解析する系を確立させた。妊娠マウスの腹腔内および羊水腔内に菌体成分であるLPSすることによる子宮内感染・早産モデルを構築し、新生仔のマウス大脳の免疫組織学的解析を行い、6層構造の乱れおよび細胞移動の障害が認められ、出生後の脳障害の要因となりうる可能性が考えられた。また、臨床検体を用いた検討により妊娠中及び産褥期の母体のストレスマーカーによる評価で母体ストレスが母性行動の変化の可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

周産期医療領域において最大の命題である胎児・新生児脳障害について大脳皮質の発生に着目して病態形成の解明に結びつけようとする研究であり、早産・子宮内感染が大脳皮質の6層構造構築に影響を及ぼす点から発生学的視点で脳障害および機能障害の予防および制御の可能性を明らかにした意義がある。さらに妊娠中および産褥期の母体ストレスが母性行動に影響することから児の発達にも影響を及ぼすことは考えられ、妊娠・産褥期の母体のメンタルケアの重要性を明らかにした点にも意義がある。

研究成果の概要(英文)：Although advances in perinatal care have dramatically improved the prognosis of mothers and infants, neonatal brain damage is still a major issue in perinatology. In this study, we established a system for quantitative analysis of cerebral six-layer structure and cell migration using immunohistological analysis of neonatal the mouse cerebrum. A model of intrauterine infection and/or preterm birth by LPS, which is a bacterial cell component, into the abdominal cavity and the amniotic fluid of pregnant mice was constructed, and immunohistological analysis of the neonatal mouse cerebrum was performed. We revealed the disorder of the six-layer structure and the movement of cerebrum cells. Impairment of mobility was recognized, and there was a possibility that it might be a factor of postnatal brain damage. In addition, the examination using clinical samples showed that maternal stress may change maternal behavior by evaluation with maternal stress markers.

研究分野：周産期医学

キーワード：脳障害 大脳6層構造 子宮内感染 母体ストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

周産期医療の進歩により母子の予後は飛躍的に改善されているものの依然として新生児の脳障害は大きな課題である。胎児心拍モニタリングなどの分娩中の管理体制は整備されているにも拘らず、脳性麻痺の発生頻度には大きな変化を認めていない。産科無過失保障制度などの体制の整備によって救済が可能となり、医療訴訟が減少するという目覚ましい成果は得られているが、脳障害発症の機序や予防対策などは十分に解明し得ているとは言い難い。さらに、最近では早産や低出生体重の際に大きな脳性麻痺のような脳障害を来さない場合でも早産や低出生体重は自閉症スペクトラムなどの発達障害や学習障害のリスク因子となることが知られている。母体のストレスが発達障害などのリスクとなり、胎児・新生児の感情表現が制限されることも報告されている。こうした脳の微細な変化も含めて脳障害を理解するためには脳の発生・発達も含めた包括的理解が必要となる。また、胎児・新生児の脳発生・発達に影響を及ぼす可能性のある因子を見出すことも重要な課題となる。大脳皮質6層構造は哺乳類に特徴的な構造で、胎生期の神経上皮での神経前駆細胞(NPC)からの神経細胞への増殖・分化によって構築される。したがって脳の発生構築には様々な制御因子が関与していることが考えられ、周産期事象による生理的・病的因子が脳の発生構築に影響を及ぼすと考えられ、胎児および母体の両面から脳の発生構築に関与する因子を見出すことが胎児脳障害の病態を明らかとする上で重要であると考えられる。

2. 研究の目的

周産期医療において最も脳障害発症に関与する早産に着目して妊娠マウスにおける早産モデルマウス(LPS 腹腔内投与、LPS 羊水腔内投与、LPS 腔内投与)の構築を図り、大脳における炎症所見の解析を図るとともに免疫組織学的手法を用いてマウス大脳障害の変化を解析し、脳障害に至る病態を明らかとすることおよび母体因子に関して臨床的知見を解析して脳障害および母子間の異常について解析することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 新生仔のマウス大脳の免疫組織学的解析

マウスは妊娠 ICR マウスを用いて新生仔のマウス大脳の免疫組織学的解析を施行し、形質性アストロサイトのマーカーとして S100 β 、繊維性アストロサイトのマーカーとして GFAP、オリゴデンドロサイトのマーカーとして Olig2、O4、ニューロンのマーカーとして NeuN、核は DAPI にて染色する。染色後の観察に蛍光顕微鏡(Olympus, BX61, Japan)と、共焦点レーザー顕微鏡(Olympus, FV-1000, Japan)を用いて定量解析した。

(2) 腹腔内 LPS 投与早産モデルの構築

子宮内感染・早産モデルを構築する目的で妊娠 ICR マウス 13.5 ~ 15.5 日目 (E13.5 ~ 15.5) において腹腔内に LPS を投与して感染モデルを作成した。

(3) LPS 羊水腔内投与早産モデルマウスの構築

胎生 15 日目 (E15) の妊娠マウスの子宮内胎嚢間に LPS(Lipopolysaccharide)を投与し、感染早産モデルマウスを作成した。

(4) 早産モデルにおける炎症反応に関する検討

LPS 投与炎症早産モデルマウスにおける大脳炎症所見に関して炎症マーカーを用いた RT-PCR 法によって解析した。

(5) LPS 投与感染モデルにおける大脳構築構造の解析

LPS 投与感染モデルに対して新生仔のマウス大脳の免疫組織学的手法を用いて大脳構造の解析を行った。

(6) 母体ストレスの分娩後母性行動に及ぼす影響の解析

妊娠中の母体ストレスを質問票、ストレスマーカー測定によって評価し、分娩後の母性行動との関連について解析した。

4. 研究成果

(1) 新生仔のマウス大脳の免疫組織学的解析法の確立

蛍光顕微鏡(Olympus, BX61, Japan)と、共焦点レーザー顕微鏡(Olympus, FV-1000, Japan)を用いて定量解析し、大脳皮質における細胞分布の観察ならびに6層構造の解析システムを確立した。

(2) 腹腔内 LPS 投与早産モデルの確立

腹腔内に LPS を投与による、早産モデルマウスを構築した。

(3) LPS 羊水腔内投与早産モデルマウスの確立

子宮内胎嚢間に LOS を投与することによる早産モデルマウスを構築した。

(4) 早産モデルにおける炎症反応に変化

LPS 投与感染モデルマウスにおいて胎生期 (E16) の脳の炎症性遺伝子群の発現が有意に増加し、新生仔 (P1~2) においては炎症性遺伝子群の発現はむしろ低下した。炎症マーカーの中で IL-6 が最も顕著に炎症反応を呈した。

(5) LPS 投与感染モデルにおける大脳構築構造の変化

LPS 投与感染モデル新生仔のマウス大脳の免疫組織学的解析を行い、大脳6層構造の乱れおよび細胞移動の変化を認めたが、有意差は確認できなかった。

(6) 母体ストレスの母性行動への影響

435人の検討で母体ストレスが母体行動とくに親子関係に影響を及ぼすことが明らかとなり、帝王切開の際には特に注意深い介入の必要性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. Song M, Ishii H, Toda M, Tomimatsu T, Katsuyama H, Nakai Y, Shimoya K. Maternal Depression and Mother-to-Infant Bonding: The Association of Delivery Mode, General Health and Stress Markers Open Journal of Obstetrics and Gynecology 10.4236/ojog.2017.72017
2. Sano R, Kanomata N, Suzuki S, Shimoya K, Sato Y, Moriya T, Shiota M. Vasohibin-1 Is a Poor Prognostic Factor of Ovarian Carcinoma. Tohoku J Exp Med Oct;243(2) 2017 107-114.
3. Hazama Y, Moriya T, Sugihara M, Sano R, Shiota M, Nakamura T, Shimoya K. The Analysis of Cell Cycle-related Proteins in Ovarian Clear Cell Carcinoma Versus High-grade Serous Carcinoma. Int J Gynecol Pathol. 2018 Nov;37(6):516-524.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：潮田 至央

ローマ字氏名： Ushioda Norichika

所属研究機関名： 川崎医科大学

部局名： 医学部

職名： 講師

研究者番号(8桁): 40454821

研究分担者氏名：村田 卓也

ローマ字氏名： Murata Takuya

所属研究機関名： 川崎医科大学

部局名： 医学部

職名： 講師

研究者番号(8桁): 20714207

研究分担者氏名： 富松 拓治

ローマ字氏名： Tomimatsu Takuji

所属研究機関名： 大阪大学

部局名： 医学系研究科

職名： 講師

研究者番号(8桁): 30346209

研究分担者氏名： 中井 祐一郎

ローマ字氏名： Nakai Yuichiro

所属研究機関名： 川崎医科大学

部局名： 医学部

職名： 准教授

研究者番号(8桁): 50271193

研究分担者氏名： 中村 隆文
ローマ字氏名： Nakamura Takafumi
所属研究機関名： 川崎医科大学
部局名： 医学部
職名： 教授
研究者番号(8桁): 20303969

研究分担者氏名： 村田 晋
ローマ字氏名： Murata Susumu
所属研究機関名： 山口大学
部局名： 医学部附属病院
職名： 助教
研究者番号(8桁): 00420521

研究分担者氏名： 石田 剛
ローマ字氏名： Ishida Tsuyoshi
所属研究機関名： 川崎医科大学
部局名： 医学部
職名： 講師
研究者番号(8桁): 90509225

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。