

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19653

研究課題名(和文) 早産児晚期循環不全発症児におけるNO代謝産物の検討

研究課題名(英文) Nitric oxide in preterm infants affected by late onset circulatory collapse

研究代表者

鷲尾 洋介 (Washio, Yosuke)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：20569066

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 700,000円

研究成果の概要(和文)：超早産児で発症する晚期循環不全の病態を解明するために経時的にNOxの測定を行なった。出生後から2週間毎にNOxの測定を行い、晚期循環不全発症時にもNOxを測定した。現在17症例を登録し、10症例の計測を完了している。NOxは臍帯血では10～30 $\mu\text{mol/L}$ と低値であったが、生後2～8週では30～60 $\mu\text{mol/L}$ で安定して経過した。10例中1例で晚期循環不全を発症した。発症時にはNOxは軽度上昇していたが、有意検定を行うには至っていない。今後も症例を蓄積する予定である。

研究成果の概要(英文)：To reveal the pathological condition of late onset circulatory collapse in very preterm infants, we evaluate nitric oxide metabolite longitudinally. NOx was measured every two weeks after birth prospectively. NOx was also measured at onset of late onset circulatory collapse. We enrolled 17 cases and completed NOx measurement in 10 cases until now. NOx was showed decreased values in cord blood at birth(10 - 20 $\mu\text{mol/L}$ ), then remained stable during 2 to 8 weeks after birth (30-60 $\mu\text{mol/L}$ ). Only 1 case developed late onset circulatory collapse. NOx was elevated at onset in that case, but can't perform statistical comparisons. We will accumulate sufficient cases from now to evaluate whether the endogenous nitric oxide affect pathological condition of late onset circulatory collapse.

研究分野：新生児

キーワード：NO代謝産物 早産児 晚期循環不全

## 1. 研究開始当初の背景

晩期循環不全 (late onset circulatory collapse, 以下LCC)は、急性期を離脱した早産児が感染や動脈管開存等の背景なく突然の血圧低下、乏尿をきたしショックとなる疾患である。本疾患は28週未満の超早産児で多く報告されており、経験的にステロイド投与で改善することが知られているが、治療に対する反応性が乏しい症例を認める事があり、重篤な合併症として脳室周囲白質軟化症が報告されている<sup>(1)</sup>。本疾患の背景には相対的な副腎不全があるとの報告がなされているが<sup>(2)</sup>、循環動態が明らかにされていない。申請者らは超音波検査による循環動態の解析を行い、晩期循環不全発症児に全身の血管拡張に伴う血圧の低下が起こっており、臓器血流の不均等が起こることが明らかとなり、結果として腎血流障害に伴う急性腎不全、脳血流障害に伴う脳室周囲白質軟化症の誘因となっている事が判明した<sup>(3)</sup>。

一酸化窒素(Nitric oxide: NO)は内因性にアルギニン酸化によって生成される生物学的活性を有する化学物質であり、様々な生理学的反応における重要な伝達物質として知られている。細胞内信号伝達や、血管拡張作用を有し、感染時にはiNOSにより大量に生産され非特異的な防御因子として働く場合もある。

NOは生成後、循環系に入ると速やかに酸化されてNO<sub>2</sub>、NO<sub>3</sub>となる。これらのNO代謝産物(NOx)を計測することにより、全身で内因性に産生されたNOを評価することが可能である。早産児ではNOxのデータは非常に限られており、これまでの報告では正期産児に比べて早産児では高いことや、出生後1週間に比べ1か月時に高いこと、肺炎やサイトメガロウイルス感染で高値となることなどが報告されている<sup>(4,5)</sup>。

これまで内因性のNOがステロイドと拮抗していることを示す報告が複数なされており<sup>(6,7)</sup>、早産児晩期循環不全の背景に相対的な副腎不全があること、申請者らの報告から晩期循環不全の循環動態に全身の血管拡張が存在していることから我々は晩期循環不全の発症時に内因性のNO産生が増加している可能性が高いと考えた。申請者はまず、早産児の非侵襲的に採取可能な尿を用いて尿中NOxの計測にトライしたが、発症時には乏尿となるため検体の採取が難しく、十分な症例を集める事ができなかった。5例のみの検討では晩期循環不全発症時には尿中NOxは増加していた。

また、酸化ストレスは生体内で活性酸素群が抗酸化システムで補足しきれないほど過剰に生じる状況である。酸化ストレス亢進は血管内皮機能不全と深く関連している。早産児は抗酸化システムが未熟な上に環境要因(出

生後の急激な酸素曝露)、周産期因子(絨毛膜炎、新生児仮死)で極度の酸化ストレスにさらされている状態にある。慢性肺疾患や未熟児網膜症の発症に酸化ストレスが影響している報告もあり<sup>(8,9)</sup>、酸化ストレスを適切に押さえることが、良好な予後をもたらすとされている<sup>(10,11)</sup>。炎症状態などでNOが過剰に産生された場合にO<sub>2</sub>がNOと結合してONOO<sup>-</sup>を過剰産生し、酸化ストレスが亢進することでミトコンドリア障害、細胞・組織障害を引き起こすと考えられている。LCC発症時の酸化度、抗酸化力を評価することでLCCの病態を把握することができると考え本研究を企画した。

## 2. 研究の目的

以上から超早産児を対象として、血中でのNOx、酸化度、抗酸化力を経時的に測定し、LCC発症群、非発症群の推移を比較することによって晩期循環不全の病態を把握することが可能となる。疾患の治療方針を確立し、合併症である脳室周囲白質軟化症の発症を防ぐ事を目的に本研究を企画した。

## 3. 研究の方法

早産児における急性期離脱後晩期循環不全は28週未満の早産児に高率に発症します。生後1週間以降に発症することが多く、修正33週頃まで発症する可能性がある<sup>(1)</sup>。申請者の報告で晩期循環不全発症時には血管拡張を主体とする循環不全が起きていることが明らかになっている<sup>(2)</sup>。背景には相対的な副腎不全が存在すると報告されているが<sup>(3)</sup>、基礎的な研究でステロイドとNO産生が拮抗することを示す報告がいくつかなされている<sup>(4)</sup>。以上の背景から晩期循環不全の発症には内因性のNO産生の増加が関与している可能性が高いと推察される。晩期循環不全を発症した児におけるNO代謝産物の推移を検討する。

28週未満の早産児の症例数を確保するために平成27年度から平成28年度までの2年間症例を蓄積した。中西らの報告から<sup>(1)</sup>、晩期循環不全の28週未満の発症率を20-40%程度と考えて全体で30例、晩期循環不全症例10例以上を集めることを目標とした。

### 早産児の出生後NO代謝産物の推移の検討

早産児のNO代謝産物の出生後の推移を示した検討は乏しく、これまで敗血症時に上昇する可能性やサイトメガロウイルス感染症発症時に上昇するといった報告がなされている<sup>(5,6)</sup>。同意取得できた28週未満

の早産児を対象に出生後1週間から1週間毎に修正35週まで経時的に採血を行い、検体を保存した後NOxを測定して早産児のNO代謝産物の推移を検討した。

### 晩期循環不全発症児のNO代謝産物の検討

晩期循環不全の診断は未熟児内分泌研究会が作成した診断基準(表1)に順じた(7)。

表1

<p>生後1週間以降、呼吸循環動態が落ち着いた時期が存在した後、動脈管開存症や敗血症等の明らかな原因なく突然以下の血圧低下もしくは尿量減少のいずれか一つを認め昇圧治療を要した症例</p> <p>血圧低下：繰り返し測定した血圧がそれまでの80%未満</p> <p>尿量減少(下記のいずれか)</p> <p>a)8時間の尿量が半量未満</p> <p>b)8時間の尿量が1ml/kg/h未満</p> <p>c)4時間排尿が確認できない(尿閉は除く)</p>
---

晩期循環不全発症時、治療介入前に採血を行って検体を保存した。治療の第一選択は推奨通りハイドロコルチゾンとして、必要時に循環血液量増加薬、強心剤等を併用する。血圧が上昇し、尿量が回復して循環不全症状を離脱したと判断した時点で再度採血し検体を保存した。

#### 4. 研究成果

現在17例の早産児症例を登録し、うち10症例の検体に関してNOx値の検査を完了した。10症例の背景を表2に示す。

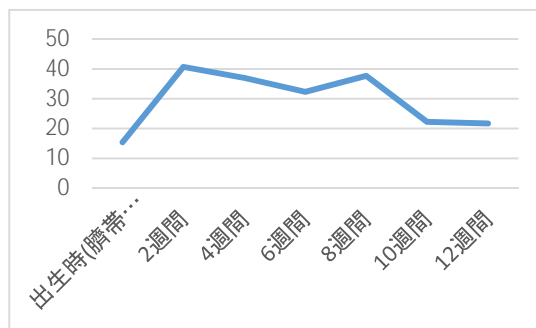
表2

	症例数 10例
在胎期間	26.6 ± 1.1 週
出生体重	916.2 ± 187.6
Apgar score	4/7
RDS	8例
敗血症	1例
NEC	1例
インダシン	6例
晩期循環不全	1例

登録症例のうち晩期循環不全発症例は1例のみであった。

NOxはノンパラメトリックデータであり、中央値を算出し推移を図1に示している。

図1

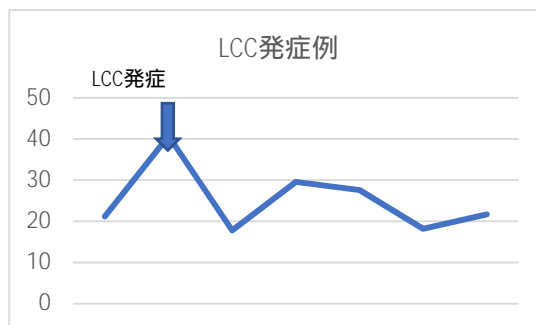


以前我々が行なった尿検体を用いた報告では出生後NO代謝産物は徐々に増加するという結果だったが、今回の検討では臍帯血中のNOxは10~30 μmol/Lと比較的低値であった、生後2~8週の間は30~60 μmol/Lで安定して推移した。

1症例でNOxが経過中に著しい高値を示した症例を認めたが敗血症等の合併症は認めず、高値となった原因ははっきりと鑑別不可能であった。

LCC発症例ではLCC発症時にNOxは上昇していたが、敗血症時と比べると軽度の上昇に止まっている(図2)。現在は1症例のみなので、今後も症例を蓄積して研究結果を明らかにする予定である。

図2



#### 参考文献

- 1) Nakanishi H et al. Clinical characterization and long-term prognosis of neurological development in preterm infants with late-onset circulatory collapse. J Perinatol, 30(11),pp 751-6, 2010
- 2) Washio Y et al. Hemodynamic analysis in infants with late-onset circulatory collapse. Pediatr Int, 55(5), pp 582-8, 2013
- 3) Masumoto K et al. Comparison of serum cortisol concentrations in

- preterm infants with or without late-onset circulatory collapse due to adrenal insufficiency of prematurity. *Pediatr Res*, 63(6), 686-90, 2008
- 4) Wallerath T et al. Down-regulation of the expression of endothelial NO synthase is likely to contribute to glucocorticoid-mediated hypertention. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96(23), 13357-62
- 5) Liu Y et al. Glucocorticoid response elements and 11-hydroxysteroid dehydrogenases in the regulation of endothelial nitric oxide synthase expression. *Cardiovasc Res*, 81(1), 140-7
- 6) Dzik JM et al. Nitric oxide metabolites in the urine of full-term and preterm infants. *Pediatr Int*, 44(4), pp 368-75, 2002
- 7) Figueras-Aloy J et al. Plasma nitrite/nitrate and endothelin-1 concentrations in neonatal sepsis. *Acta Paediatr*, 92(5), pp582-7, 2003

#### 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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者：鷲尾 洋介(WASHIO yosuke)  
 岡山大学・大学病院 助教

研究者番号：20569066

(2)研究分担者 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：

(4)研究協力者 ( )