

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10091

研究課題名(和文) 新生児血栓症における血小板 好中球凝集体とMMP-9の関連性の解析

研究課題名(英文) Analysis of platelet-neutrophil aggregates and MMP-9 in neonatal thromboembolism

研究代表者

楠田 剛 (Kusuda, Takeshi)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：90710533

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：極低出生体重児の血小板好中球凝集体を測定した。49人がエントリーされ明らかな血栓症症状を示す児はいなかった。退院時の頭部MRI検査で頭蓋内出血を認めた症例が12例(27.2%)あり、日齢0/日齢3の血小板好中球凝集体の値と統計学的有意差はなかったが関連する傾向があった。また、経皮的中心静脈カテーテルの挿入期間、PDAの閉鎖時期、未熟児網膜症との関連はなかった。母体の絨毛膜羊膜炎と日齢7の血小板好中球凝集体は有意差をもって関連性を認めた。MMP-9のELISAは更に症例を積み重ねて施行するが測定する準備は整っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新生児で血小板好中球凝集体と血栓症との関連を初めて検討した。日齢0並びに日齢3の検体と退院時の頭部MRI検査にて頭蓋内出血を認めた症例と一部関連を認めた。血栓症に伴う頭蓋内出血の可能性はある。超音波検査で頭蓋内の検査はできるがその範囲は限定的である。また母体絨毛膜羊膜炎との関連も示された。生後早期の検体を用いて血栓症発症のリスクを考慮することができる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We assayed platelet-neutrophil aggregate in very low birth weight infants. 49 neonates have been entered to this study. There were no neonates with obvious thrombotic symptoms, but there were 12 cases (27.2%) with intracranial hemorrhage by head MRI examination. The rate of platelet-neutrophil aggregate on day 0 and day 3 after birth, there was no significant difference, was a tendency to be related to intracranial hemorrhage. In addition, there was no association with the duration of PI catheter insertion, the day of PDA closure, or retinopathy of prematurity. There was a statistically significant difference between maternal chorioamnionitis and platelet-neutrophil aggregates on day 7 after birth. The preparations for measurement of MMP-9 are ready.

研究分野：新生児

キーワード：血小板-好中球凝集体 早産児 極低出生体重児 血栓症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### (1) 低出生体重児の増加

現在日本の出生数は減少傾向にあるが、出生体重2500g未満の低出生体重児の割合は10%と多く、特に極低出生体重児の割合は全出生の2.5%と増加している。

#### (2) 新生児の血栓症

当教室は新生児の血栓症に対して様々な報告を行っている。2012年の全国調査の報告では新生児血栓症の発症率は6年前と比し約2倍に増加しており、中でも早産児の占める割合が20%増加している。従来より遺伝性血栓症疾患が関与するリスクは言われていたがその割合は小さい。新生児は感染症、心疾患や仮死を罹患しやすくそれ自体が血栓症のリスクファクターとなる。また経皮的中心静脈カテーテルによる血栓症が多いと言われている。中心静脈カテーテルは特に極低出生体重児に対し日常的に留置されており、新生児において血栓症に留意すべき大きな要因となっている。

#### (3) 血小板好中球凝集体

小児領域で血栓症に留意すべき疾患として川崎病が知られている。川崎病は回復期に血小板が増多する。近年川崎病において血小板好中球凝集体が増加し、血栓との関連が報告されている<sup>1)</sup>。新生児期は生理的な血小板増多を認めることがありこれも川崎病と類似している。尚、新生児で血小板好中球凝集体を調べた報告はない。

#### (4) MMP-9

matrix metalloproteinase (MMP)-9は末梢の好中球数と関連があり、また血栓症の関連性も言われている。

### 2. 研究の目的

新生児の血小板好中球凝集体とMMP-9を測定し、中心静脈カテーテル留置など新生児特有のリスク因子との関連を調べる。

新生児の血小板好中球凝集体とMMP-9が特発性新生児血栓症の診断、治療並びに予防に役立つかを明らかにする。

### 3. 研究の方法

承諾を得た上で血液検体の採取を行うと共に詳細な臨床データの回収を行った。血小板-好中球凝集体に関しては、フローサイトメトリーにて好中球のマーカーであるCD11bと血小板のマーカーであるCD41を測定し解析を行った。MMP-9は、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法にて測定する。

### 4. 研究成果

#### (1) 患者背景

49名の極低出生体重児について検討した。図1にプロフィールを示す。平均在胎週数28週0日、体重926.6g、男/女比は31/18であった。アプガースコア(5分)は6.4点で1-3点の重症仮死は5人いた。感染に関しては出生時のIgMは平均12.3mg/dlであった。臨床的もしくは胎盤の病理で母体絨毛膜羊膜炎(chorioamnionitis: CAM)と診断されたのは24例であった。臨床経過は全例PIカテーテルを留置し、平均抜去日齢は41.3日であった。自然に閉鎖しない動脈管(patent ductus arteriosus: PDA)に対してインドメタシンもしくはイブプロフェン投与を行ったのは10例でPDAの平均閉鎖日齢は5.6。PDA結紮術を施行した症例はなかった

## (2) フローサイトメトリーでの血小板好中球凝集体測定

日齢 0、3、7、28 に測定した。全好中球 (CD66+) 中での CD11b+/CD41+ の割合の推移を図 2 に示す。日齢 0 から 3 にかけて増加し日齢 7 で減少、再び日齢 28 にかけていずれも有意差をもって変化した (図 2)。

経過中、明らかに血栓症の症状を示す児はいなかったが、49 例中 44 例は退院前に頭部 MRI 検査を施行した。そのうち 12 例 (27.2%) に頭蓋内出血の所見を認めた。このうち 7 例は入院中の頭部超音波検査では指摘されていない症例であった。頭蓋内出血症例と在胎週数、出生体重、性別に相関はなかった。仮死による影響を考慮し 5 分時のアプガースコア 3 点以下の 5 人を除いた症例で検討したところ日齢 0 の血小板好中球凝集体は頭蓋内出血なし  $17.05 \pm 6.89\%$  に対して頭蓋内出血あり  $24.88 \pm 10.58\%$  と後者が高い傾向はあったが統計学的有意差はなかった。また日齢 0 の値を日齢 3 で除した値と比較したところ頭部 MRI 検査にて出血所見を認めた症例はそうでない症例と比べ、高い傾向があった ( $0.86 \pm 0.43$  vs  $1.58 \pm 0.062$ , p-value 0.0619, 図 3)。その他のパラメーターでも統計学的有意差はなかった。

PI カテーテル挿入期間と頭蓋内出血症例の関係は挿入期間が長いと出血しやすい傾向はあったが統計学的有意差はなかった。また PI カテーテル挿入期間と血小板好中球複合体とを検討したが特に関連はなかった。

動脈管開存症に関しては、閉鎖日齢並びに治療介入の有無との関連を調べたが統計学的有意差はなかった。

感染に関しては、生後の IgM との比較でも統計学的有意差はなかった。しかし母体の CAM との関連は、日齢 7 において有意に CAM あり症例で血小板好中球凝集体の割合が多かった ( $p=0.0347$ , 図 4)。ただし過去の報告では CAM と頭蓋内出血との関連が言われているが<sup>2)</sup>、今回は有意差はなかった。

異常な血管新生を認める未熟児網膜症 (retinopathy of prematurity: ROP) に対して治療を要した症例との関連を調べたが血小板好中球凝集体との関連はなかった。

## (3) ELISA での MMP-9 測定

血小板好中球凝集体測定にて臨床データとの関連する傾向はあったがもう少し症例を増やす必要があると考えられた。症例を積み重ねそれと同時に assay する方針である。すでに測定する準備は整っている。

図 1 患者プロフィール

在胎週数	28w0d (23w4d-36w3d)
出生体重 (g)	926.6 (420-1470)
性別 (M/F)	31/18
アプガースコア (5分)	6.4 (1-10)
血小板数 (万/ $\mu$ l)	24.1 (5.7-47.2)
IgM (mg/dl)	12.3 (2-182)
母体 CAM	24 (49.0%)
PIカテーテル留置	49 (100%)
抜去日齢	41.3 (14-246)
PDA治療	10 (20.4%)
閉鎖日齢	5.6 (0-60)
BPD	23 (46.9%)
ROP	10 (20.4%)
頭蓋内出血 (N=44)	12 (27.2%)

図 2 血小板好中球凝集体の推移

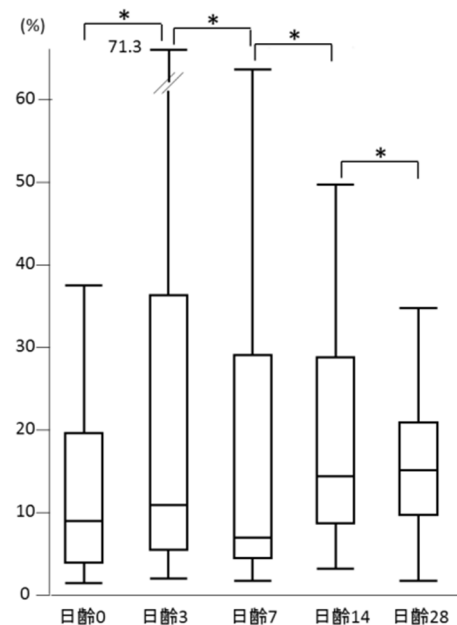


図3 血小板好中球凝集体と頭蓋内出血の関連

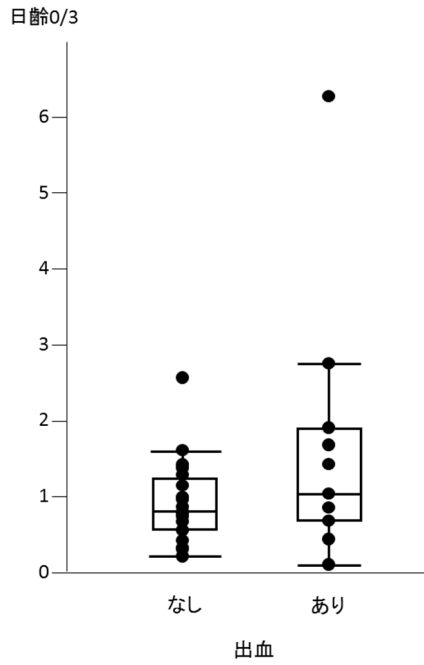
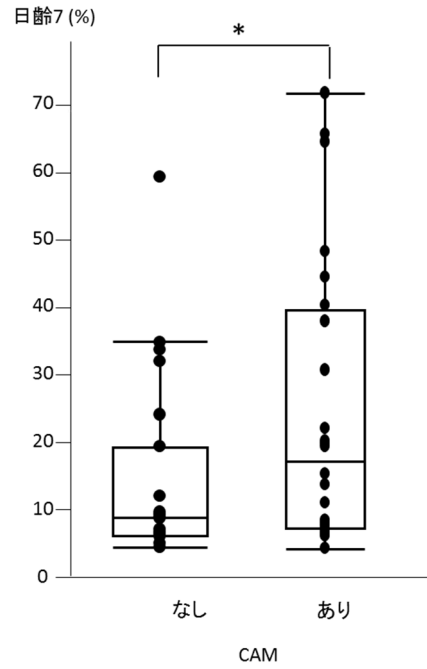


図4 血小板好中球凝集体とCAMの関連



<引用論文>

- 1) Ueno K, Nomura Y, Morita Y, Eguchi T, Masuda K, Kawano Y. Ueno K, et al. Circulating platelet-neutrophil aggregates play a significant role in Kawasaki disease. *Circ J.* 79(6): 1349, 2015.
- 2) Granger C, Spittle AJ, Walsh J, Pyman J, Anderson PJ, Thompson DK, Lee KJ, Coleman L, Dajia C, Doyle LW, Cheong J. Histologic chorioamnionitis in preterm infants: correlation with brain magnetic resonance imaging at term equivalent age. *BMC Pediatr.* 18 (1): 63, 2018.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----