

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：16201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K21202

研究課題名(和文) 新生児期の低酸素性虚血による多臓器障害の病態生理と治療に関する研究

研究課題名(英文) The research for multiple organ dysfunction in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy

研究代表者

久保 裕之 (Kubo, Hiroyuki)

香川大学・医学部・協力研究員

研究者番号：30564116

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、新生仔豚を用いて、低酸素性虚血性脳症(HIE)発症時の全身の臓器障害に関する研究を行っている。

本研究で、HIE発症時には脳だけでなく肝障害も併発していることを突き止め、さらに全身低体温治療によりこの肝障害が軽減されることを発見し、Neonatology(2017;111:203-210)で報告した。またHIE発症時には腎の線維化が起きることを病理学的に証明し、さらに追加の研究により、この腎障害は低体温治療では予防し得ない新しい結果を得た。これらの結果は新生児低酸素性虚血性脳症患児の管理に貢献するものと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新生児期の低酸素性虚血性脳症発症時には脳自体の障害だけでなく、同時に多臓器、特に肝臓、腎臓にも障害を来すことを病理学的に証明した。また低体温治療は、肝障害予防には効果的に作用することが分かったが、一方、腎障害予防には繋がらない可能性が示唆された。

このことは新生児医療における低酸素性虚血性脳症患児の管理の発展に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy affects not only brain per se but also liver and kidney. Therapeutic hypothermia suppressed liver injury. Whereas, therapeutic hypothermia did not suppress kidney injury.

We consider that these results contribute to the establishment of treatment for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy.

研究分野：小児・新生児外科

キーワード：新生仔豚 低酸素性虚血性脳症 多臓器障害 肝障害 腎障害 低体温治療

1. 研究開始当初の背景

周産期新生児医療領域で、新生児の低酸素性虚血性脳症 (HIE) は最も重大な病態の1つである。HIE は出生 1000 人中 1.64 人とされ、その 27% が新生児期に死亡し、生き残った大半も、脳性麻痺や精神遅滞、癲癇などの脳障害を有する。この HIE について、これまでは脳障害の病態解明、治療戦略の確立に重点を置いた研究がなされていたが、HIE 発症時には脳障害だけでなく、同時に他臓器の障害も生じていることが知られており、特に重症 HIE 時は同時に心障害(62%)、腎障害(70%)、肺障害(86%)、そして肝障害(85%)を生じることがわかってきた。しかしこれらの報告は血液データによる報告であり、病理組織学的に臓器障害を証明した報告はない。この多臓器障害を動物実験において病理組織学的に証明することは、今後治療戦略の確立において非常に重要である。

また現在、HIE の治療として低体温治療がひろく行われるようになった。脳保護効果として国際的に唯一認められた治療法であり、HIE 患児の生命・神経学的予後を改善する治療として期待されている。しかしこの低体温治療が、HIE 時の多臓器障害に対してどういった影響を及ぼすのかは分かっていない。臓器移植などの観点から、一般に低体温は臓器保護効果があるとされている。したがって、HIE に併発する多臓器障害にも何らかの効果があることが推測され、その影響を病理組織学的に証明することは、今後の治療確立に非常に重要であると考えられる。さらに臓器虚血再灌流時にはフリーラジカルが増加することが分かっており、この時発生したフリーラジカルは更なる臓器障害を引き起こすとされる。よってこのフリーラジカルを除去するフリーラジカルスカベンジャーの投与は HIE においても多臓器障害を軽減できると考えられる。

2. 研究の目的

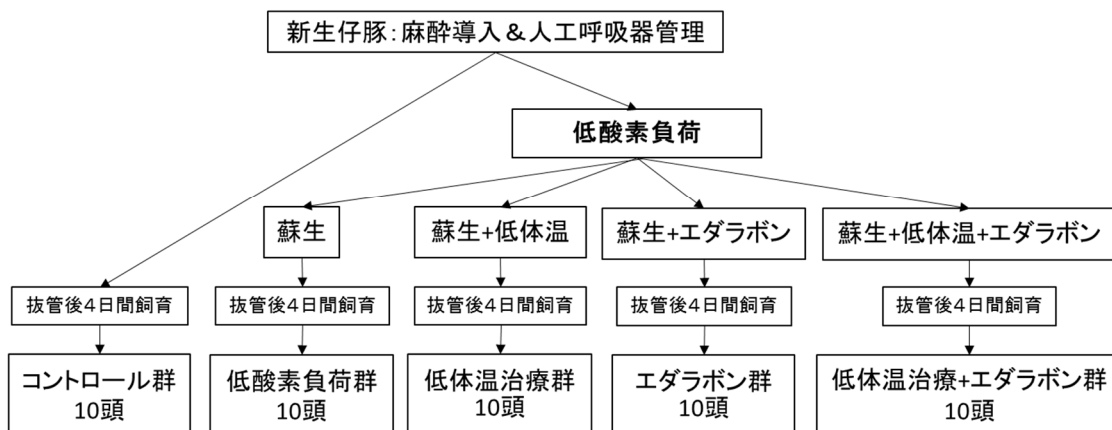
本実験の目的は、新生仔豚における HIE 発症時の多臓器障害を病理組織学的に証明し、全身低体温及びフリーラジカルスカベンジャー投与による治療の効果・影響を調査することで、実際の新生児 HIE 患児の予後改善を目指すものである。

3. 研究の方法

これまでに我々研究グループは、長期生存可能な新生仔豚低酸素虚血性脳症モデルの作成に成功し、人工呼吸器から離脱させて負荷後 5 日まで観察可能としている。「HIE を起こすレベルの低酸素症から蘇生した、今後の長期的な管理や治療を要する新生児」のモデルとすることで、単なる低酸素障害だけでなく、Diving Reflex や臓器虚血再灌流障害を反映した臓器の変化を観察することが可能であり、HIE と同時に引き起こる多臓器障害やその治療効果の病理組織学的評価に適した実験であると考えている。

生後 2 4 時間以内の新生仔豚を使用し、「コントロール群」「低酸素負荷群」「低酸素負荷 + 低体温治療群」「低酸素負荷 + エダラボン(フリーラジカルスカベンジャー)投与群」「低酸素負荷 + 低体温治療 + エダラボン投与群」の 5 群を作成する。犠死後は全身臓器(肝、小腸、腎、脾、副腎、肺、心、脳、血液)を採取し、低酸素性臓器障害とその治療による効果を血液学および病理組織学的に調査し、5 群間において統計学的処理を行う。

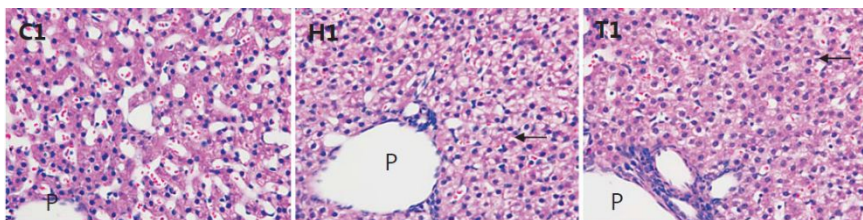
表1: 5群作成のプロトコール



4. 研究成果

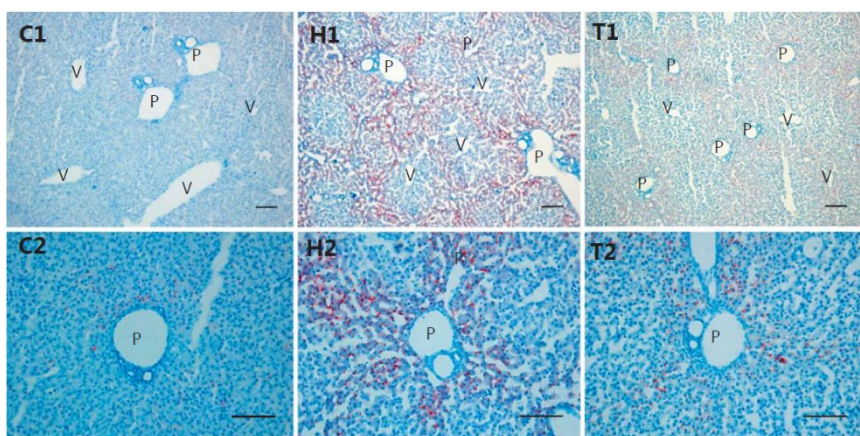
【肝臓】

HE 染色：肝細胞には壊死所見は認めなかったが、コントロール群に比べ、低酸素負荷群では細胞質の染まりが淡く、抜けている部位が目立った。細胞の空胞化と考えられた。



C1：コントロール群
H1：低酸素負荷群
T1：低体温治療群
P：門脈

脂肪染色：コントロール群に比べ、低酸素負荷群では、門脈周辺域の肝細胞質内に微小脂肪滴が多く蓄積していた。その微小脂肪滴蓄積は、低体温治療群では減少していた。



C1：コントロール群
H1：低酸素負荷群
T1：低体温治療群
p：門脈
v：中心静脈

肝細胞質への微小脂肪滴蓄積は細胞障害の指標と考えられており、HIE 時の急性虚血性肝障害を証明した結果となった。また肝障害は Zonation が重要であるが、門脈領域中心に脂肪滴蓄積が起きたことは、低酸素性肝障害の初期の病態として新しい知見であると考えられる。また、これまで HIE の治療として用いられる全身低体温治療の肝臓への影響は分かっていなかったが、今回の実験により、全身低体温治療は HIE 時の肝臓の脂肪蓄積抑制すなわち肝細胞保護効果もある可能性が示唆された。以上の結果は英文雑誌に掲載された。

Hiroyuki Kubo, et al: Hypoxic-ischemic encephalopathy-associated liver fatty degeneration and the effects of therapeutic hypothermia in newborn piglets. Neonatology, 111:203-210, 2017.

【腎臓】

HIE 発症時には、腎の線維化が起きることを病理学的に証明した。さらにこの腎障害は全身低体温治療では予防し得ない結果を得た。現在この結果を論文にて発表予定であるが、まだ Accept には至っていない。

【小腸、脾臓、副腎、肺、心臓】

本実験ではあきらかな細胞障害は生じていなかった。今回の低酸素負荷条件では病理学的に証明する障害を起こすレベルではなかったと考えられた。

【エダラボン】

エダラボンによる明らかな臓器保護効果は認められなかった。細胞に対する有意な変化は得られなかったため、濃度を変更することを今後の課題とした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hiroyuki Kubo	4. 巻 111
2. 論文標題 Hypoxic-Ischemic Encephalopathy-Associated Liver Fatty Degeneration and the Effects of Therapeutic Hypothermia in Newborn Piglets	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neonatology	6. 最初と最後の頁 203-210
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000450721	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

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