

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10197

研究課題名(和文) 新生児期痛みストレスによる自閉症スペクトラム障害を阻止する内分泌機能保護療法

研究課題名(英文) Development of endocrinological method to prevent future ASDs induced by neonatal pain

研究代表者

山田 恭聖 (YAMADA, YASUMASA)

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：60405165

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)：早産児も生存可能となったが、長期予後に関しては行動異常を含めまだ改善の余地がある。自閉症スペクトラム障害(ASDs)の発症頻度は一般母集団の2倍以上であると言われる。動物実験では、新生児期に痛み暴露されると成獣期において、不安行動が認められたり、視床下部-下垂体-副腎皮質の制御が攪乱する。私たちは新生児期の痛み刺激の増加がASDs発症につながると考えている。本研究では、早産児に暴露した痛み刺激と非定型的な発達の間を修正12ヶ月で確認した。また自動型ランセットによる足底採血は従来の針による採決に比較して痛みが少ないことを見つけ、将来のASDsにつながる非定形発達を予防する可能性を示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

発達障害を抱える小児は近年増加しており、その療育や学習支援の必要性が社会で増大している。一方で早産児の割合は増加しており、これらの児の発達障害の発症率は高く、一般の2倍とも言われている。NICUで暴露される痛み刺激が、ストレス制御機構を破綻させていることが原因の一つと考えた。今回この仮説を検証すると同時に予防法に大きな一歩を踏み出した。発達障害に苦しむ小児を減らす一助になれば幸いである。

研究成果の概要(英文)：The majority of infants born very preterm now survive. However their long-term neurodevelopmental outcomes, including problems with behavior, have not improved. Some researchers have reported the incidence of autism spectrum disorder (ASDs) is more 2 times in NICU survivor than in normal population. In animal study, rat pups expose to neonatal pain showed increased anxiety-mediated behavior and disturbed Hypothalamus-Pituitary-Adrenal gland (HPA) system during adulthood. We had suggested greater neonatal pain exposure was associated with future ASDs induced by altered HPA axis regulation. In present study, we have confirmed the relationship between neonatal pain and future atypical development in very preterm infants at 12mo corrected age.

Furthermore, we have presented that a consideration of blood sampling method in NICU most likely prevent atypical development leading to ASDs.

研究分野：胎児・新生児医学

キーワード：pain neonate ASDs HPA axis NICU

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

小児の発達障害の一つである自閉症スペクトラム障害(ASD)は、その発症率がここ10年で実に2倍になったと言われ、その急激な増加は社会的にも注目を浴びている。なかでもNICU退院児はASDの発症頻度が高く、報告によっては一般の約2倍と言われており、NICU退院後のASDsの発症予防は喫緊の課題である。私たちは、NICU入院中の痛みストレスが将来のASDs発症の原因であり危険因子であると着想し研究を行なっている。

### 1) NICU 入院中の痛み刺激が退院後の児の発達に与える影響

1000g未満で出生した合計124例と1000g以上で出生した71例の親による毎日のカウントで集計した18ヶ月でのストレスに対する反応をみると、1000g未満で出生した児は、それ以上の児に比較して明らかに反応が弱いとする報告がある1)。

また、在胎週数32週未満で出生した早産児96例と正期産児49例を対象とした研究では、生後18ヶ月の時点で早産児は正期産児に比較して、有意に内在的問題行動(抑うつ傾向や自尊心の低下、ひきこもりなど)が目立ち、早産児ではNICU入院中に痛みを伴う処置を多く受けた児ほど、その内在的問題行動が多く認められることが報告されている。これは乳児の情緒表現への気づきや共感的な反応など母親の応答能力で改善することも併せて報告されている2)。このように新生児期早期の痛みは子供の感情的な発達に影響し、これは母親の応答能力で改善する報告は他にも多い3)。

さらに、在胎週数32週未満の早産児101例を対象とした研究では、NICUで痛みを伴う処置が多く受けた児ほど、7歳でも内在的問題行動が多く、新生児期のモルヒネの使用はむしろ内在的問題行動には負の因子であったと報告されている4)。

また別の在胎週数32週未満の早産児54例を対象としたコホート研究では、NICUで痛みを多く受けた児ほど小学校においても脳の活動性が変化しており、視覚認知能力の低下が認められる5)。

このように、早産児、特に在胎週数32週未満で出生した児はNICUで行われた痛み刺激に応じて、幼児期、学童期に至るまで脳機能に影響を及ぼし、神経行動学的発達が非定型的となり、発達障害につながる行動異常を認めることがわかっている。

### 2) 動物実験からの報告

新生仔期の痛みによる変化として、末梢神経の神経支配増生、脊髄レベルではグリシン抑制系の成熟遅延やミクログリアのサイトカイン産生の基礎値上昇などむしろ反応過敏に向かう変容が報告されているが、中枢では脳幹部のオピオイド受容体発現上昇やセロトニンやGABAなど抑制性神経伝達物質の効果増強など痛み刺激に対する耐性が報告されている。

ラット新生仔に生後2週間痛み刺激(足底穿刺)を毎日加え、生後20日(離乳期)で刺激に対するコルチゾールの反応性を見た研究では、コントロール群に比較してその反応性に差が見出せなかった。しかし、対象群では母親ラットのグルーミングが増えているので、ストレス反応系の変容をマスクしていると結論づけている6)。

また、出生当日ラットに開腹手術を行い、成獣期に痛み反応テストを行った報告では、無麻酔で手術を行った群は、モルヒネ麻酔で手術した群に比較して、成獣期に痛み刺激に対する反応鈍麻があった。しかし出生当日にモルヒネを投与して手術をしなかった群は生食を投与して手術をしなかった群に比較し、痛み反応はむしろ鈍麻していた7)。

これらは前述した臨床の報告で、痛みを伴う処置を多く受けた児ほど内在的問題行動は増えたが、18ヶ月では母親の応答能力が改善に、7歳では新生児期のモルヒネの使用が増悪に働いた現象と共通点があり非常に興味深い。

### 3) 新生児期の痛みによる内分泌システムの攪乱

NICUでの痛み刺激の長期予後への影響を語る上で、内分泌とくにHPAaxisの変容に注目が集まっている。225例の新生児を対象とし、生後3ヶ月、6ヶ月、8ヶ月、18ヶ月で唾液中のコルチゾールを測定したコホート研究では、正期産児は月齢に伴い低下していくが、在胎28週未満の超早産児では、逆に上昇していた8)。

また別の在胎32週未満の早産児83例、正期産児45例を対象とした研究では、7歳で早産児の毛髪のコルチゾールレベルは正期産児よりも低く、男児ではNICUでの痛み刺激が多い方が毛髪のコルチゾールは低かった9)。このように新生児期の痛みによるHPAaxisの将来にわたる変容を示唆する報告が数多くされている。

成人の領域においてHPAaxisの破綻は、うつ病のメカニズムの仮説の一つとして考えられている。発達障害児の後のうつ病発症率の高さを鑑みると、新生児期の痛み刺激によるHPAaxisの変容が、幼児学童期の発達障害に、さらには成人期のうつ病発症に負の因子として働いている可能性も懸念される。

## 2. 研究の目的

繰り返す痛みにより海馬のグルココルチコイド受容体が変化することによりHPAaxisの負のフィードバック機構が破綻し、持続的なHPAaxis亢進状態が継続し、最終的には海馬神経の萎縮やセロトニンの相対的低下をもたらす仮説を私たちは提唱しその検証を行なっている。本研究課題では、NICU入院中の痛みストレスとHPAaxisの機能不全の関連に着目し、ASD発症機序を解明する。さらに上位中枢の海馬グルココルチコイド受容体の機能保護による新たなASD発症予防法の可能性を臨床的および基礎的アプローチから提示することを目的とした。

## 3. 研究の方法

在胎週数32週未満出生早産児のNICU退院後の外来フォローアップにおいて、修正月齢4ヶ月、8ヶ月、12ヶ月まで発達評価を行い、入院中の痛み刺激の積算回数やその緩和として投与したシヨ糖の積算投与回数との関係の解析を行った。

動物実験においては、出生早期の痛み刺激ラットとその行動解析モデル実験系を作成した。

## 4. 研究成果

修正12ヶ月では、痛み刺激の回数が多いほど発達遅延の危険性が高まっていた。また18ヶ月以降では痛み刺激の回数が多いと自閉的な傾向を認める印象を持っている。さらに唾液中のコルチゾールなど内分泌のパラメーターとの相関関係も解析中である。

また注射針ではなく、自動型ランセットを用いるというNICU入院中の採血法の配慮により、痛み刺激を緩和し将来の発達を改善する可能性を示唆した10)。さらに、ストレスに伴うHPAaxisの反応性の弱い早産児においては、積極的にコルチゾールの補充を行うことにより、急性期の晩期循環不全を予防し、将来的な神経学的予後を改善する可能性を示唆した11)。

動物実験においては、出生早期の痛み刺激ラットとその行動解析モデル実験系を作成した。痛み刺激により成獣期の行動異常を起こすモデル系をほぼ確立した。これを用いた実験系として、GRs受容体拮抗薬であるメチラポンやケトコナゾールなどを痛みストレスを加える時期に

一致させ腹腔内投与し、その後のコルチコステロン値の動向、行動評価、GRs 発現に与える効果を検証実験する準備が完了した。

#### 参考文献

- 1) Grunau RVE, Whitfield MF, Petrie JH. Pain sensitivity and temperament in extremely-low-birthweight premature toddlers and preterm and full-term controls. *Pain* 58:341-6. 1994
- 2) Vinall J, Miller SP, Synnes AR, et al. Parent behaviors moderate the relationship between neonatal pain and internalizing behaviors at 18 months corrected age in children born very prematurely. *Pain Sep*;154(9):1831-9. 2013
- 3) Valeri BO, Holsti L, Linhares MB. Neonatal pain and developmental outcomes in children born preterm: a systematic review. *Clin J Pain Apr*;31(4):355-62. 2015.
- 4) Ranger M, Synnes AR, Vinall J, et al. Internalizing behaviours in school-age children born very preterm are predicted by neonatal pain and morphine exposure. *Eur J Pain Jul*;18(6):844-52. 2014
- 5) Doesburg SM, Chau CM, Cheung TP, et al. Neonatal pain-related stress, functional cortical activity and visual-perceptual abilities in school-age children born at extremely low gestational age. *Pain. Oct*;154(10):1946-52. 2013
- 6) Walker CD, Kudreikis K, Sherrard A, et al. Repeated neonatal pain influences maternal behavior, but not stress responsiveness in rat offspring. *Brain Res Dev Brain Res. Feb 16*;140(2):253-61. 2003
- 7) Sternberg WF, Scorr L, Smith LD, et al. Long-term effects of neonatal surgery on adulthood pain behavior. *Pain. Feb*;113(3):347-53. 2005
- 8) Grunau RE<sup>1</sup>, Haley DW, Whitfield MF, et al. Altered basal cortisol levels at 3, 6, 8 and 18 months in infants born at extremely low gestational age. *J Pediatr. Feb*;150(2):151-6. 2007
- 9) Grunau RE, Cepeda IL, Chau CM, et al. Neonatal pain-related stress and NFKB1A genotype are associated with altered cortisol levels in preterm boys at school age. *PLoS One. Sep 16*;8(9):e73926. 2013
- 10) Goto T, Inoue T, Kamiya C, Kawabe H, Higuchi M, Suyam M, Goto T, Koide W, Maki K, Ushijima K, Ban K, Yamada Y. Neonatal Pain Response to Automatic Lancet vs. Needle Heel Prick Blood Sampling: A Prospective Randomized Controlled Clinical Trial. *Pediatr Int. 62*(3):357-362. 2020
- 11) Ueda H, Kakita H, Ichimura S, Mori M, Takeshita S, Goto T, Kondo T, Yamada Y. Corticotrophin-releasing hormone stimulation tests in late-onset circulatory collapse. *Pediatr Int. 61*(11): 1114-1119. 2019

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Goto T, Inoue T, Kamiya C, Kawabe H, Higuchi M, Suyam M, Goto T, Koide W, Maki K, Ushijima K, Ban K, Yamada Y.	4. 巻 62(3)
2. 論文標題 Neonatal Pain Response to Automatic Lancet vs. Needle Heel Prick Blood Sampling: A Prospective Randomized Controlled Clinical Trial.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pediatr Int.	6. 最初と最後の頁 357-362
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ped.14142	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 -

1. 著者名 Ueda H, Kakita H, Ichimura S, Mori M, Takeshita S, Goto T, Kondo T, Yamada Y.	4. 巻 61(11)
2. 論文標題 Corticotrophin-releasing hormone stimulation tests in late-onset circulatory collapse.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatr Int.	6. 最初と最後の頁 1114-1119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ped.13956	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	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
研究分担者	垣田 博樹  (KAKITA HIROKI)  (40528949)	愛知医科大学・医学部・講師    (33920)	
研究分担者	青山 峰芳  (AOYAMA MINEYOSHI)  (70363918)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院（薬学）・教授    (23903)	