

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10198

研究課題名（和文）胎盤血流動態が胎盤形態と栄養素輸送機能に与える影響の研究

研究課題名（英文）The investigation of the effects of placental hemodynamics on placental morphology and nutrient transport function

研究代表者

柴田 英治（Shibata, Eiji）

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：90419838

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）：胎児発育制限には、母体の体組成や栄養摂取、子宮胎盤循環動態に加えて、胎盤そのものの機能変化が密接に関わる。これまで客観的な評価が技術的に困難であった胎盤実質内の血流動態を超音波3Dパワードブラ法により定量化し、その測定値が胎盤機能（組織学的構造異常、栄養素輸送機能異常、血管新生異常）を反映するか否かを検討することを目的とした。その結果、胎盤3Dパワードブラ法は、胎盤栄養素輸送機能、母体血液中の胎盤血管新生因子異常、胎盤形態学的異常を妊娠中に予測し得る検査法ではなかったが、胎盤構造異常（胎盤のGlycocalyx発現変化）の有無を予測し得る可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児発育制限は出生児の予後に悪影響及ぼすが、低栄養環境で発育した児は、将来のメタボリック症候群発症のリスクが高いことも報告されている。しかしながら、このようなBaker仮説の根本である栄養素輸送などの胎盤機能には未解決な部分が多く、胎児発育制限に対する根本的治療戦略がないのが現状である。今回、3Dパワードブラ法により胎盤血流動態と様々な胎盤機能の関連を調べたところ、3Dパワードブラ法は胎盤のGCX発現量を予測し得る可能性が示唆された。この研究成果は、GCX損傷に起因する子宮内環境の悪化を妊娠早期に診断し、胎児発育制限に対する新たな根本的治療戦略を開発することに貢献できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Fetal growth restriction is closely related to not only maternal body composition, nutrient intake, and utero-placental circulatory dynamics but also placental own functional changes. In this study, we used a new ultrasonic 3D power Doppler analysis to measure the hemodynamics in the placental parenchyma which used to be technically difficult to evaluate. We looked at if the values measured by ultrasonic 3D power Doppler analysis is a useful marker of the abnormal placental functions such as abnormal histological structures, abnormal nutrient transport functions, and alteration of angiogenetic factors. As a result, we found the positive correlation between the placental glycocalyx expression and the flow index measured by the 3D power Doppler analysis. However, 3D power Doppler method was not useful for predicting abnormal nutrient transport function, abnormal antigenic factors in maternal blood, and other histological abnormality during pregnancy.

研究分野：周産期医学

キーワード：胎盤 血流 3Dパワードブラー Glycocalyx 栄養素輸送 sFlt-1 PlGF sEng

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メタボリック症候群(MS)の発症には、生活習慣や遺伝的素因の他、胎児期から新生児期にかけての栄養環境が密接に関連していることが注目されている。子宮内で低栄養環境に曝露された胎児臓器は、epigenetic な機序を介し遺伝子発現量を調節してエネルギー儉約型に適応するが、この適応機構は「胎児プログラミング(fetal programming)」として生涯にわたり持続する。その結果、出生後の好転した栄養状態においてはむしろ過剰適応となり、肥満を背景とした糖代謝異常や高血圧を中心病態とする MS の発症に至るという機序が近年解明されつつある。この流れを受けて、今後さらに多くの研究分野から胎児期の栄養環境に注目が集まることが予想される。子宮内の栄養環境を規定する因子と胎児発育との関連について明らかにすることは、胎児発育不全の病態解明に貢献するばかりか、一生涯の疾病リスクに対し胎児期から予防的介入を行う手段を提供し、周産期医学、小児科学、予防医学の観点から非常に重要であり、解明すべき医学研究領域である。

胎児発育は経胎盤的に供給される糖・アミノ酸・脂質などの栄養素に大きく依存している。この栄養素の供給には、母体の内分泌環境や栄養摂取、子宮らせん動脈再構築障害などに起因する胎盤循環障害や胎盤栄養素輸送機能などが影響を及ぼす。GCX は血管内皮細胞においてはシェアストレス誘発性 NO 合成調節、抗酸化ストレス作用、血管透過性調節、血液凝固機能調節、抗炎症作用などの機能を有することなどが明らかにされつつある。また GCX 損傷により遊離脂肪酸輸送異常を惹起することも示唆されている。1975 年 D.Nelson らにより GCX が胎盤の合胞体栄養膜細胞の母体面に豊富に存在することが免疫組織学的に初めて証明されたが、近年、GCX 損傷が胎盤機能を修飾し胎児発育異常や異常妊娠の発症に関与することが考察されている。しかしながら、胎盤において GCX の損傷を起こす因子や GCX 機能と胎盤栄養素輸送機能との関連性については未解決である。

子宮内胎児発育不全や妊娠高血圧症候群の胎盤は子宮らせん動脈再構築障害による胎盤循環不全を病態の基盤としており、これらの疾患では子宮らせん動脈の狭小化により絨毛間腔へ血流異常が生じていると考えられている。その結果、これらの異常妊娠では、比較的脆弱な構造である胎盤 GCX の損傷が、胎盤循環異常により誘発されている可能性がある。近年の超音波診断装置の技術革新により、超音波 3D パワードプラ法を用いることで従来客観的な評価が困難であった胎盤実質の血管や血流分布の評価が可能となった。この手法を用いた臨床研究では、子宮内胎児発育不全や妊娠高血圧症候群の胎盤実質の血流異常が存在し、超音波 3D パワードプラ法は胎盤実質内の血流動態を評価する新しい手技になると報告されている (Noguchi J. Placenta 2009, Anthony O. Odibo. Placenta 2011)。

これらの背景から、超音波 3D パワードプラ法で測定された胎盤実質内の血流動態測定値が、胎盤の組織学的異常や機能異常を反映するか否か検討することとした。

2. 研究の目的

正常妊娠 (Normal)、子宮内胎児発育不全 (FGR)、妊娠高血圧症候群 (PE) において超音波 3D パワードプラ法を用いて胎盤の血流動態を定量化し、その測定値と胎盤 GCX 発現の程度および胎盤栄養素輸送機能の間の相関性を調べ、胎盤循環動態の変化が GCX 損傷や胎盤機能異常と関連するか否か詳細に検討することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

被験者の選択およびリクルート

妊娠 28 週 0 日から 32 週 0 日の間、当院で妊婦健診を受け分娩予定の単胎妊婦を対象とした。以下 3 群をリクルートした。

(1) Normal 群：母体に耐糖能異常などの合併症がなく、胎児推定体重が $-1.5SD$ を超え $+1.5SD$ 未満の正常妊婦 27 例。

(2) FGR 群：リクルート時に胎児推定体重が $-1.5SD$ 以下の妊婦 9 例。母体基礎疾患、喫煙者、感染症、胎児染色体異常など胎児発育に影響を与える因子がない症例。

(3) PE 群：リクルート時に妊娠高血圧腎症の診断がなされた妊婦 28 例。妊婦は他の合併症を有していない者とする。

(リクルート後の妊娠経過中に、上記診断基準から逸脱した症例は除外した)

(妊娠期間中の分析事項)

妊娠後期・分娩入院時に超音波 3D power Doppler 法で胎盤体積測定、VOCAL 法 (Virtualorgan Computer-aided analysis)、histogram analysis による胎盤血流動態計測を行った。

使用機器：汎用超音波画像診断装置 Voluson E8 (GE health care)

測定方法：VOCAL 法 (Virtualorgan Computer-aided analysis)、histogram analysis.

測定項目：胎盤 Vascularization-Index (VI)、Flow-Index (FI)、Vascularization-Flow-Index (VFI)、臍帯動脈血流 RI, PI 値。

測定値は胎盤実質内の血管数 (vascularization) や血流 (blood flow) を反映するマーカーとした。

(分娩後の分析事項)

胎盤採取：胎盤片 4 個 (3×3×3cm) を分娩後直ちに採取する。新鮮胎盤片の 1 つで栄養素輸送活性測定を行う。新鮮胎盤片 1 つを液体窒素で凍結し、-70 で保存。残りの胎盤片 2 つをホルマリン固定・パラフィン包埋 (薄切片作成) し HE 染色・免疫組織染色に用いた。
 母体血・臍帯血採取：分娩時、母体および臍帯血を 10ml 採取し血清分離を行った。
 胎盤 GCX 損傷の評価：胎盤 Glycocalyx の主要構成要素である Syndecan 1 発現の局在および染色強度を免疫組織染色標本で分析し (染色強度は Blinded observer により 0 ~ +4 までスコア化し半定量する) 分析した。

本研究では直接および間接的因子を含めて以下を胎盤機能要素とし分析した。

出生児・胎盤の臨床データ取得

新生児情報 (出生体重・ポンデルル指数など)、妊娠週数で補正した Birthweight Centile 算出、胎盤重量、胎盤体積、臍帯付着部位

胎盤の形態学的検討

HE 染色標本の画像解析により胎盤形態学分析を行う。検討項目は以下である。

a. 合体栄養膜細胞数、b. 絨毛内血管数、c. 絨毛間腔面積

胎盤の栄養素輸送体評価

a. 形態学的検討 (免疫組織染色) および輸送蛋白定量：

栄養素輸送体：アミノ酸：systemL (4F2hc, LAT1) の発現の局在を免疫組織学的で分析した。また、染色強度を免疫組織染色標本で分析し (染色強度は Blinded observer により 0 ~ +4 までスコア化し半定量した)。

母体血における測定項目

分娩時に得られた母体血中の胎盤の血管新生因子である Placental growth factor (PlGF)、抗血管新生因子である soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) や soluble Endoglin (sEng) を ELISA 法 (R&D) で測定した。

(データ解析) 全症例における a. 胎盤血流動態測定値 (VI、FI、VFI) と b. 胎盤 GCX 発現の程度、c. 胎盤栄養素輸送機能 (L 型アミノ酸輸送蛋白の発現) d. 母体血液中の PlGF、sFlt-1、sEng、e. 胎盤の形態学的検討の相関性分析を行った。また、Normal 群、FGR 群、PE 群における上記 a、b、c、d、e の相違を比較した。

4. 研究成果

(1) Normal 群、FGR 群、PE 群における胎盤血流動態測定値 (VI、FI、VFI) の比較

- 平均 VFI 値が Normal 群と比較して、FGR 群で低い傾向であったが、VI、FI、VFI いずれも Normal 群、FGR 群、PE 群の間で有意差を認めなかった。

(2) Normal 群、FGR 群、PE 群における胎盤 GCX 発現 (染色濃度、細胞周囲の分布、広がり) の比較

- 胎盤の GCX 発現強度は、Normal 群、FGR 群、PE 群の間で有意差を認めなかった。

(3) Normal 群、FGR 群、PE 群における L 型アミノ酸輸送蛋白発現の比較

- 胎盤の L 型アミノ酸輸送蛋白 (LAT1、4F2hc) 発現強度は、Normal 群、FGR 群、PE 群の間で有意差を認めなかった。

(4) Normal 群、FGR 群、PE 群における母体血液中の PlGF、sFlt-1、sEng 濃度の比較

- 母体血液中の PlGF は Normal 群と比較して、FGR 群、PE 群で低い傾向であり、sFlt-1、sEng は、FGR 群、PE 群で高い傾向であった (図 1)。

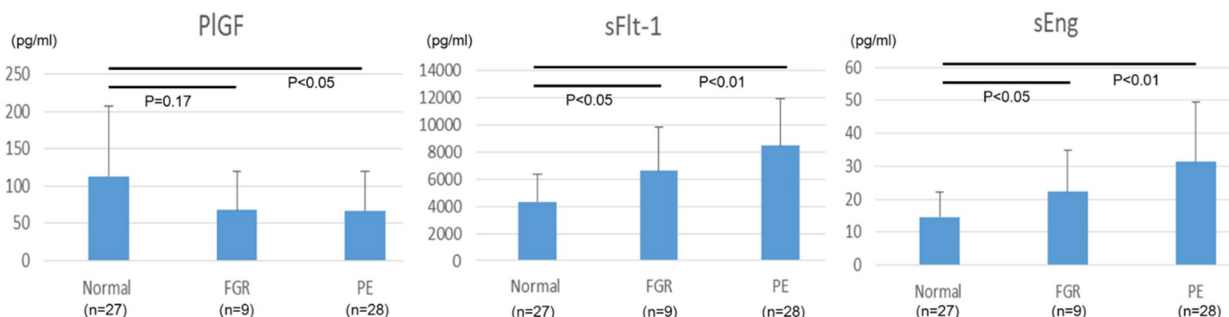


図 1 : Normal 群、FGR 群、PE 群における母体血液中 PlGF、sFlt-1、sEng 濃度

(5) Normal 群、FGR 群、PE 群における胎盤形態学的検討の比較

- 各群における合体栄養膜細胞数、絨毛内血管数、絨毛間腔面積に有意な差を認めなかった。

(6) 全症例の胎盤血流動態測定値(VI、FI、VFI)と胎盤 GCX 発現の相関性

- ・ FI と胎盤 GCX 発現の間には軽度～中等度の正の相関が認められたが(図2)、VI と VFI と GCX の発現の相関性は認められなかった。

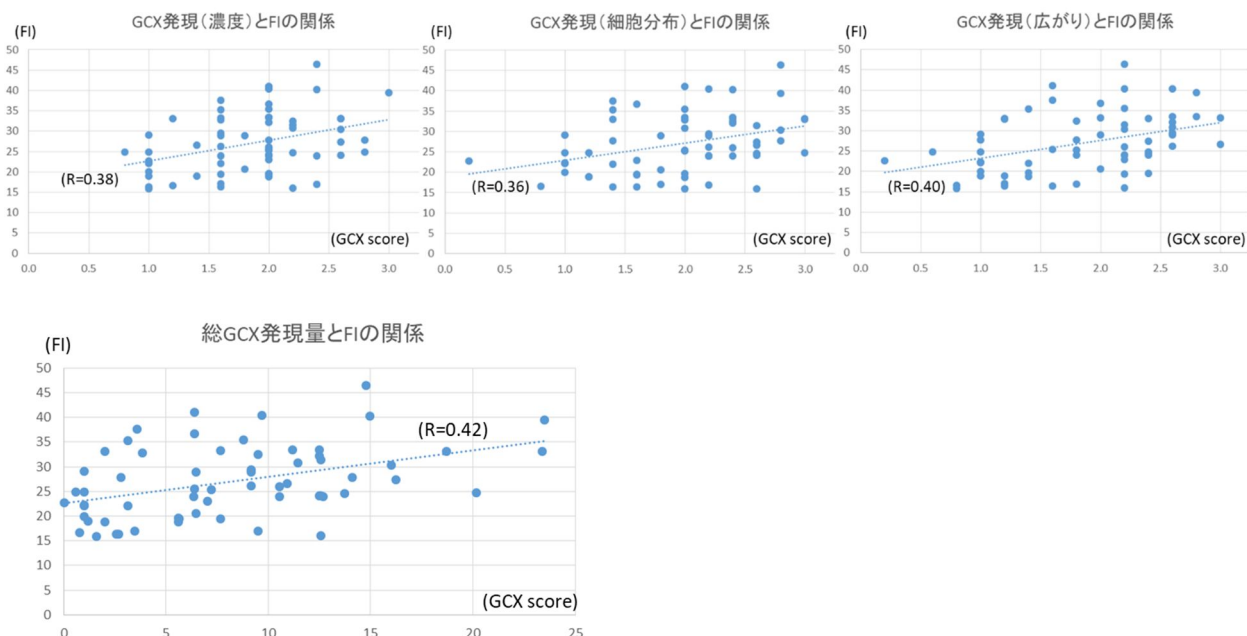


図2：FI と胎盤 GCX 発現(上段：3要素別 GCX 発現量、下段：総 GCX 発現量)の関係

(7) 全症例の胎盤血流動態測定値(VI、FI、VFI)と胎盤のL型アミノ酸輸送蛋白(LAT1、4F2hc)発現強度の相関性

- ・ VI、FI、VFI 値と LAT1、4F2hc 発現強度の間には有意な相関関係は認められなかった。

(8) 全症例の胎盤血流動態測定値(VI、FI、VFI)と母体血液中のPIGF、sFlt-1、sEng 濃度の相関性

- ・ VI、FI、VFI 値と PIGF、sFlt-1、sEng 濃度の間には有意な相関関係は認められなかった。

(9) 全症例の胎盤血流動態測定値(VI、FI、VFI)と胎盤形態学的検査(合胞体栄養膜細胞数、絨毛内血管数、絨毛間腔面積)と相関性

- ・ VI、FI、VFI 値と合胞体栄養膜細胞数、絨毛内血管数、絨毛間腔面積の間には有意な相関関係は認められなかった。

以上の研究結果より、胎盤3Dパワードプラ法(VI、FI、VFI値)は、胎盤栄養素輸送機能(L型アミノ酸輸送蛋白の発現)、母体血液中のPIGF、sFlt-1、sEng濃度、胎盤の形態学的異常(合胞体栄養膜細胞数、絨毛内血管数、絨毛間腔面積)を妊娠中に予測し得る検査法とはならなかったが、胎盤のGCX発現(損傷の有無)を予測し得る可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 櫻木俊秀、柴田英治、萩本真理奈、樋上翔大、藤本茂樹、榊原優、網本頌子、森博士、荒牧聡、吉野潔
2. 発表標題 正常妊娠および妊娠高血圧症候群の胎盤における3Dパワードプラ法による胎盤血流評価と胎盤構造に関する研究
3. 学会等名 第39回日本妊娠高血圧学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 妊娠高血圧腎症および胎児発育不全の胎盤における脂肪酸輸送蛋白発現に関する研究
2. 発表標題 柴田 英治、森 博、荒牧 聡、櫻木 俊秀、網本 頌子、金城 泰幸、岡部 佳介、David Askew、吉野 潔
3. 学会等名 第28回 日本病態生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柴田 英治、愛甲 悠希代、荒牧 聡、森 博士、蜂須賀 徹、アスキュー デービッド、稲垣 博英、岡部 佳介
2. 発表標題 胎盤血流動態が胎盤機能や胎児発育に与える影響の研究
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

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