

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K16286

研究課題名(和文) 内分泌マーカーによる新生児サーカディアンリズム形成過程の解析

研究課題名(英文) Analysis of the formation process of neonatal circadian rhythm using endocrine markers

研究代表者

木下 正啓 (Kinoshita, Masahiro)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：10624455

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：新生児サーカディアンリズムを探索するため、新生児の尿中コルチゾールとメラトニン代謝産物である尿中6-sulfatoxymelatoninの推移を継続的に観察し相関関係を検討した。睡眠覚醒の同定に有用とされるアクチグラフィを、ポリソムノグラフィを用いて標準化することを目的とした。尿中6-sulfatoxymelatoninに明らかなリズム形成は認められず、尿中コルチゾールは早産で出生し1か月以上経過した児で朝と夕に上昇する二峰性のリズムを認めた。両パラメーターの間に明らかな関連性は認められなかった。アクチグラフィは、アクティビティスコア124で睡眠覚醒を87%くらいの精度で判定可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サーカディアンリズムは睡眠や身体に大きく影響する因子であるが、新生児のサーカディアンリズム形成は不明な点が多く、その変化を同定することで、ハイリスク新生児の予後や医療的ケアのあり方を良い方向へ導く可能性がある。早産児においてコルチゾールの二峰性の朝夕のリズムが認められたことは、胎児期リズム残存の可能性という児の未熟性と成人型リズムへの移行を示唆する所見であり、さらなる分析によりリズム移行因子の解析に繋げていく手がかりとして期待される。睡眠覚醒の同定に有用とされるアクチグラフィが新生児でも有用であることが示され、簡便かつ非侵襲的に新生児の睡眠リズム特定に寄与する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：To explore neonatal circadian rhythms, we observed and analyzed urinary cortisol and urinary 6-sulfatoxymelatonin in newborns over time. In addition, we aimed to evaluate the accuracy of sleep-wake detection by actigraphy. No rhythm was observed in urinary 6-sulfatoxymelatonin. Urinary cortisol in preterm infants who were born more than 30 days later showed a bimodal rhythm rising in the morning and evening. There was no apparent relationship between the two parameters. Actigraphy was able to determine sleep-wake with an accuracy of about 87% when the activity score was 124.

研究分野：新生児

キーワード：概日リズム 新生児

1. 研究開始当初の背景

(1) 睡眠の重要性と問題

睡眠の問題は、小児から成人の幅広い領域で大きな問題となっており、とくにスマートフォンなどの普及に伴い学童期の睡眠障害はその深刻さが指摘されている。また、乳幼児期でも睡眠の問題は急務となっており、健診の場で保護者から児の睡眠に関する相談が多い。児の夜間合計睡眠時間とエジンバラ得点（産後うつ指標）の関係から児の夜間睡眠時間が短いほど、母親はうつ傾向にあることがわかり、子供だけでなく母親への影響も懸念されている(Iwata S 2017 Scientific reports)。このように、子供の睡眠障害は、子供だけの問題ではなく、家族単位での問題であり、その対策や説明は必要とされている。我々が専門としている新生児領域では、ハイリスク新生児、特に早期産児における睡眠障害のリスクを指摘する研究も少なくない。この睡眠障害は認知機能との関連も指摘されており、発達障害の頻度高いハイリスク新生児の睡眠を考えることは重要である。

(2) 新生児サーカディアンリズムの存在

睡眠を考えるにはサーカディアンリズムを検討することが大事であるが、これまで新生児期にはサーカディアンリズムはないとされてきた。内分泌的な考察でも、成人同様の起床後のコルチゾール上昇は、生後 8~12 週になって初めて認められ、新生児期のリズムはないとされてきた。過去には子宮内の環境は暗い環境という考え方から、成育環境を胎内と同様まで近づけることを基本概念とし部屋の照度を落とし暗い環境で早産児を管理していた歴史もある。近年では、いくつかの胎児期および新生児期におけるサーカディアンリズムの可能性を示唆する研究が散見されてきている。胎盤通過する母体メラトニンを介した胎児リズムの調整 (Maria Seron Ferre et al 2011 Molecular and Cellular Endocrinology)、夕方をピークとした胎児期コルチゾールの 24 時間変動周期の可能性 (Seron-Ferre M 2001 Am J Obstet Gynecol)、日齢 0~5 までの出生時刻を始点としたコルチゾールの 24 時間変動周期の可能性 (Iwata O 2013 JCEM)、午後をピークとするコルチゾール周期の可能性 (Kinoshita M et al 2016 Scientific reports) などの報告があり、徐々に胎児および新生児のサーカディアンリズムの輪郭が掴めつつある。このような潮流もあり、新生児センターの中でも朝と夜を意識した明暗の差を与えることが主流となってきている。

(3) 内分泌的アプローチを用いた新生児サーカディアンリズムの探索

さらなる新生児サーカディアンリズムの探求のため、メラトニンのリズムやその形成因子の探索を行った。一般的に、胎児期では母体メラトニンが胎盤を通過し胎児に作用し、出生後の新生児期にはメラトニンリズムはなく、生後 3 か月に分泌リズムが形成されるとされている。我々は、出生直後から尿中コルチゾールとメラトニン代謝産物である尿中 6-sulfatoxymelatonin の測定を行い、新生児期のコルチゾールおよびメラトニン分泌リズムを探索することとした。また、パイロット研究で、両パラメーターに正の相関の可能性を示唆する所見もみられ、出生直後から視交叉上核と末梢クロックである副腎皮質がリンクしている可能性を考慮した。

(4) アクチグラフィによる新生児サーカディアンリズムの探索

新生児の睡眠を評価するには、ポリソムノグラフィが正確とされているが、時間がかかり、特別なハードウェアや専門的な知識を要し簡便さに欠ける。そのため、新生児のための簡便で客観的な睡眠評価ツールを確立する必要がある。成人における簡便で客観的かつ信頼性の高い睡眠評価ツールとしてアクティグラフィが確立されている。アクティグラフィは、手足の動きの大きさと加速度を記録し、そこから活動指数を算出する腕時計型デバイスで、健康な成人の睡眠覚醒状態の決定において、ポリソムノグラフィとかなり高い一致率を示している。新生児でアクチグラ

フィを用いることで日中の睡眠覚醒サイクルの生理的・病的な獲得過程の理解を著しく向上させ、新生児期の睡眠構造の異常に根ざした様々な重篤な臨床症状の予測に貢献すると考えられる。しかし、新生児のアクチグラフィを用いた睡眠覚醒状態の評価に関しては、その標準化が進んでいないのが現状である。そこで、ポリソムノグラフィとアクチグラフィの同時記録により睡眠覚醒検出の精度を評価することを目的とした。

2. 研究の目的

本研究では、新生児における尿中コルチゾールとメラトニン代謝産物である 6-sulfatoxymelatonin の日内変動のトレースおよび、それらの相関関係を探索することにより、新生児の内分泌リズム変化の過程を解明すること、および、体動を測定し睡眠覚醒のリズム探索に有用とされるアクチグラフィを、ポリソムノグラフィを用いて新生児で睡眠覚醒検出の精度を標準化することを目的とし、新生児から成人型サーカディアンリズム獲得のメカニズム解明に近づくことである。

3. 研究の方法

(1) 尿中コルチゾールと尿中 6-sulfatoxymelatonin 測定

研究代表所属施設の周産期母子医療センターに入院し、全身状態が安定している出生直後の正期産の新生児と早産出生し修正週数が 37 週以上となった全身状態の安定している児を対象とした。各対象の新生児に対してオムツにガーゼを留置し、継続的に尿を採取した。採取したサンプルを遠心分離し尿中コルチゾールと尿中 6-sulfatoxymelatonin を酵素免疫測定法で測定した。正期産の新生児は 26 症例、早産出生し修正週数が 37 週以上となった児は 18 症例から採取した。

(2) アクチグラフィとポリソムノグラフィの同時測定

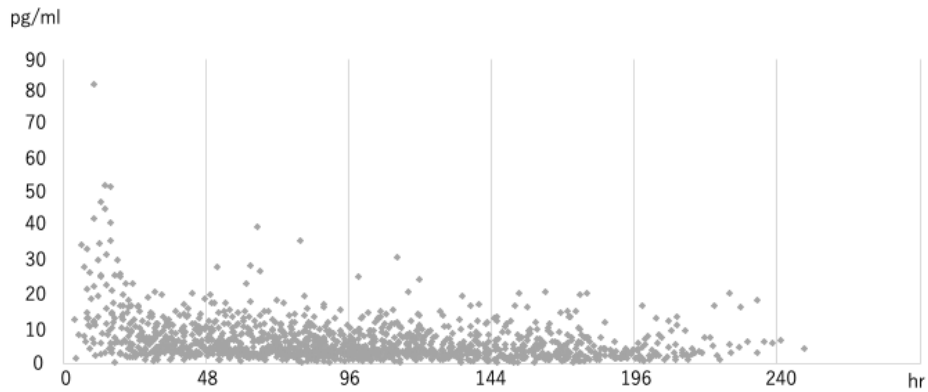
研究代表所属施設の周産期母子医療センターに入院し、全身状態が安定している児を対象とした。Actiwatch2 を下肢に装着し、同時にポリソムノグラフィを一終夜程度記録した。ポリソムノグラフィの脳波および画像データを 30 秒 1 エポックとして脳波ステート及び睡眠・覚醒を判定し、アクチグラフィのデータと接続し解析した。解析は、ポリソムノグラフィの睡眠判定を従属変数、アクティビティを独立変数としたロジスティック回帰分析を施行した。

4. 研究成果

(1) 尿中 6-sulfatoxymelatonin の継続的な変化とリズムの確認

正期産新生児では、出生直後から最長日齢 10 まで継続的に採取し計測した。下図のように概ね出生 24 時間で急速に低下し、その後低値で推移する経過を示した。しかしながら、正期産の新生児では明らかなリズムを確認できなかった。早産出生し修正週数が 37 週以上となった児では、最大 12 日間にわたり継続的に採取し計測した。正期産の新生児同様に明らかなリズムを確認できなかった。

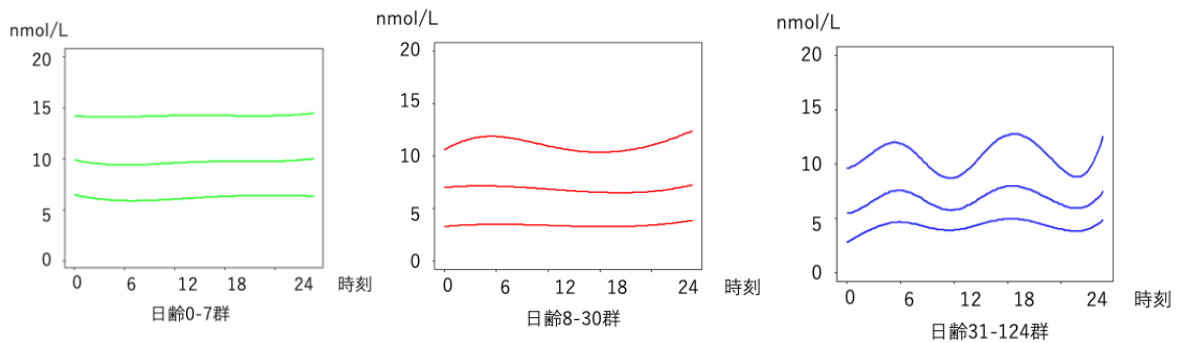
出生直後から認められる 6-sulfatoxymelatonin の急速な低下は、母体から移行したメラトニンが急速に排泄されていることを示唆しているものと推定される。その後、新生児ではメラトニン低値で推移することを反映して、6-sulfatoxymelatonin も低値で推移する結果となった。胎児期のリズムを踏襲する可能性も視野に入れて解析を行ったが、今回の研究では明らかなリズム同定まで至らなかった。



(2) 尿中コルチゾールの継時的な変化とリズムの確認

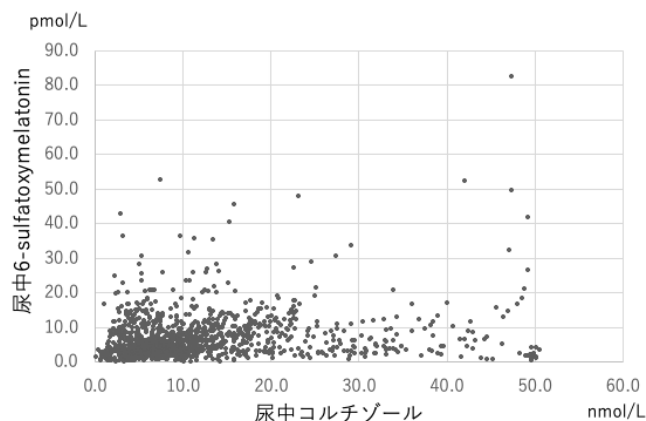
出生直後の正期産の新生児と早産出生し修正週数が37週以上となった児を、日齢0-7、日齢8-30、日齢31-124の3群に分け、個人差・日齢差を考慮し郡内でのリズムを、分位点回帰を用い混合効果モデルで推定した。日齢0-7の群では、コルチゾールは他3群に比べ高値であり、リズムは認められなかった。日齢8-30の群でも、リズムは認められなかった。日齢31-124の群では、朝と夕に上昇する二峰性のリズムを認めた。

早産として出生し予定日近くに達した児では、過去の報告(Kinoshita M et al 2016 Scientific reports)で示した夕方にコルチゾールが上昇するリズムが尿でも確認された。これは、胎児リズムの残存の可能性があり、新生児センターに入院している児に置ける未熟さを示唆している可能性がある。また、今回は朝方にもリズムを認め二峰性のリズムとなっており、成人型のコルチゾール分泌リズム形成の過程も推測される。さらなる分析によりリズム移行因子の解析に繋げていく手がかりとして期待される。

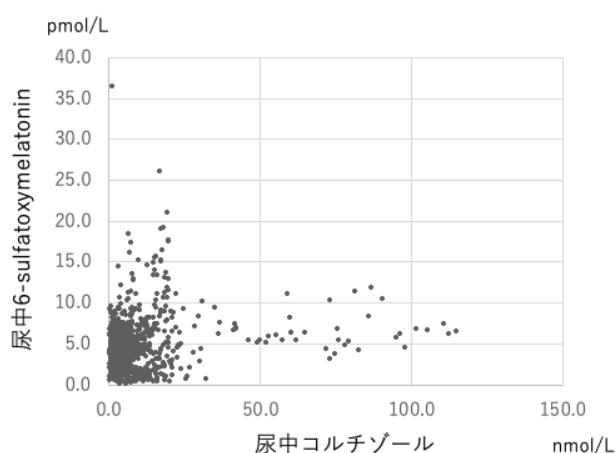


(3) 尿中コルチゾールと尿中 6-sulfatoxymelatonin との相関性

出生直後の正期産の新生児において、尿中コルチゾールと尿中 6-sulfatoxymelatonin の相関性を検討したが明らかな相関は得られなかった。



早産出生し修正週数が 37 週以上となった児において、尿中コルチゾールと尿中 6-sulfatoxymelatonin の相関性を検討したが明らかな相関は得られなかった。



視交叉上核と末梢クロックである副腎皮質がリンクを期待し相関性の検討を行ったが、末梢クロックの中核へのアプローチを示唆する所見は得られなかった。しかし、出生直後の正期産の新生児における検討では、母親から移行したメラトニンの影響を除いた検討など課題があり、今後も検討を積み重ねていく予定である。

(4) 新生児でのアクチグラフィの標準化

正期産 40 名に対してアクチグラフィとポリソムノグラフィの同時測定を施行した。ポリソムノグラフィで判定された睡眠エポックは、アクチグラフィの活動指数が大きいことと関連していた。ROC 曲線の AUC は 0.87 であった。アクティビティスコア 124 が最大の総合精度を示し、その感度、特異度、陽性予測値、陰性予測値は、それぞれ 0.985 (95%CI, 0.981-0.988)、0.447 (95%CI, 0.379-0.517)、0.911 (95%CI, 0.885-0.933)、0.850 (95%CI, 0.791-0.894) であった。正期産で NICU に入院した新生児の睡眠覚醒状態を下肢に装着したアクチグラフィを用いて正確に把握できることが示唆された。新生児でも長時間の睡眠パターンを記録できるアクチグラフィの簡便さと非侵襲性は、睡眠パターンの特定に役立つ可能性がある。さらに、睡眠障害、神経障害、認知機能障害の予測に貢献することが期待される。

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 0件）

1. 著者名 Iwata, S.	4. 巻 7
2. 論文標題 Intrauterine growth and the maturation process of adrenal function	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PeerJ	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7717/peerj.6368	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 -

1. 著者名 Masahiro Kinoshita	4. 巻 103
2. 論文標題 Feeding-Induced Cortisol Response in Newborn Infants	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Clin Endocrinol Metab	6. 最初と最後の頁 4450-4455
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/jc.2018-01052.	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4件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木下正啓
2. 発表標題 早産児に見るサーカディアンリズム
3. 学会等名 第60回日本小児神経学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 盛崎俊浩、木下正啓、進藤亮太、原直子、緑川浩子、七種護、原田英明、前野泰樹 海野光昭 岩田欧介
2. 発表標題 アクチグラフは新生児睡眠・覚醒を予測できるか PSGによるバリデーション
3. 学会等名 第54回日本周産期・新生児医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木下正啓
2. 発表標題 ハイリスク新生児の脳発育の特性と課題
3. 学会等名 日本赤ちゃん学会第17回学術集会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡村尚昌
2. 発表標題 新生児のサーカディアンリズムと影響因子：唾液中コルチゾールを用いた検討
3. 学会等名 日本赤ちゃん学会第17回学術集会（招待講演）
4. 発表年 2017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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関