

機関番号：10107

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591295

研究課題名（和文） 胎児グルココルチコイド暴露が胎児発育と新生児期に及ぼす影響に関する研究

研究課題名（英文） Impact of glucocorticoid exposure for fetus in fetal development and neonatal disease

研究代表者

長屋 建（NAGAYA KEN）

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号：80396382

研究成果の概要（和文）：

61名の早産児の尿中ステロイドをLC-MS/MS法を用いて測定した。胎盤11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type2(11 β HSD2)活性の指標として生後48時間以内の尿中(THF+alloTHF)/THEを用い臨床経過を比較検討した。11 β HSD2活性が低い児は重症例が多く、胎児副腎の母体胎盤依存性が残存していることが考えられた。さらに、在胎期間30週未満の早産児30名において、子宮内感染の有無が新生児副腎に与える影響と臨床経過を検討した。コルチゾール代謝物は二群間で差を認めなかったが、胎児層由来のDHEAは生後1、2週において子宮内感染群が高値だったことから、子宮内感染は生後の胎児層退縮には寄与せず視床下部-下垂体からの副腎刺激していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The urinary steroid of 61 preemies was measured by using LC-MS/MS. In current study, the index of placental 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type2 (11 β HSD2) substituted for urinary (THF+allo-THF)/THE within 48 hours of life. The infants with low activity of 11 β HSD2 had severer illness than those with high or middle activity of 11 β HSD2. It was suggested that the infants with low placental 11 β HSD2 activity were insufficient for adrenal maturity because they were dependent on their mothers in adrenal function. Moreover, we were examined the impact of intrauterine infection (IUI) for neonatal adrenal function in 30 preemies with less than 30 weeks of gestational age. The adrenal fetal zone product (DHEA) for 1 and 2 weeks of life was high in infants with IUI, and the metabolites of cortisol were not difference regardless of IUI. It was suggested that IUI did not lead regression of adrenal fetal zone of neonates but the activity of hypothalamic-pituitary-adrenal axis was increased in infants with IUI.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：新生児学

科研費の分科・細目：胎児・新生児医学

キーワード：グルココルチコイド、医療・福祉、ゲノム、子宮内発育不全、副腎機能

1. 研究開始当初の背景

近年の低出生体重児の増加に伴い、その原因を解明すべく胎児発育に関わる因子の研究が注目される。低出生体重児、特に子宮内発育不全児はその生命予後、神経発達予後ともに悪く、近年の新生児医療において重要な課題である。また、Barkerらの胎児儉約仮説以来、胎児期にプログラムされた体内の構造、機能的変化がその後の成人期の疾病罹患に影響するとする考えは定着しつつある。すなわち、胎児発育のメカニズムを明らかにすることは新生児医療においてのみならず、成人期の疾患予防にも寄与することが考えられ重要な課題である。

胎児発育には母体因子、胎盤因子、胎児因子、環境因子が関わるが、多くの内分泌学的因子による調節はこれらすべてに関係する。

胎児へのグルココルチコイド暴露は胎盤の11 β HSD2により母体コルチゾールがコルチゾンに不活化されることにより避けられているが、この酵素の機能を上回る母体ステロイド過剰状態や11 β HSD2の機能不全などにより胎児はステロイドに暴露される。これにより胎児発育が抑制され、その後高血圧となることが知られている。

これまで、子宮内発育不全児(IUGR児)において11 β HSD2の活性や胎盤でのmRNAの発現が低いことやストレスの高いpost-traumatic stress disorder(PTSD)の妊婦やdexamethasoneやbetamethasone投与を受けた妊婦はIUGR児を生みやすいなどが証明されている。そこで我々は胎盤における11 β HSD2の活性に注目し、母体由来のグルココルチコイド暴露を招く11 β HSD2活性の低下に遺伝的多型が関与していないかを検討することを計画した。

また、胎児期におけるステロイドの作用は胎児発育に関わるのみでなく、その成熟にも大きな役割を果たしている。実際に早期産において母体betamethasone投与は胎児の肺成熟を促し一定の効果をj得ている。一方で、早産児においては胎児期に外因性のステロイド暴露を受けることで胎児のHPA axisが抑制され、呼吸障害、新生児慢性肺疾患や循環不全に関わるとする報告も見られる。つまり、出生時における胎盤の11 β HSD2活性により胎児ステロイド暴露状況が変化し、その後の疾患の発症につながっていると推測される。この点においても胎盤における11 β HSD2の働きの解明は重要な課題と考える。

2. 研究の目的

- 11 β HSD2 遺伝的多型と胎児発育の関係性を明らかにする
- 胎盤11 β HSD2活性と新生児期の副

腎ステロイドプロファイルの経過、新生児疾患との関係を明らかにする。

3. 研究の方法

- 正期産児を対象に、*HSD11B2* 遺伝子のSNP解析を行い、ハプロタイプ構成に必要なTag SNPの選定する。選定したTag SNPを用いてハプロタイプ解析を行い出生時体格との関係を比較する。
- 早産児を対象に、出生後から経時的に尿検体を採取し、ステロイドプロファイルを測定し、新生児疾患の罹患との関係を検討する。
-

4. 研究成果

本研究申請後に公開されたHapMapプロジェクト3のデータを用いてハプロタイプブロックの検討を行った。その結果、*HSD11B2* 遺伝子は明らかなハプロタイプブロックを有しない遺伝子であることが判明し、本遺伝子によるハプロタイプ解析は困難であると判断した。

そこで、本研究のもう一つのテーマである胎盤11 β HSD2活性が新生児疾患に与える影響について重点を置き研究を行った。

初年度からの2年間は、2005年12月から2008年12月までに旭川医科大学と旭川厚生病院に入院した在胎期間36週未満のAGAの早産児のうち、生後早期から尿検体を採取できた61名を対象に、生後48時間以内に採取できた尿を用いてLC-MS/MSを用いて尿中ステロイド(コルチゾール代謝物:THF, alloTHF, コルチゾン代謝物:THE)の測定を行った。

このうち生後48時間以内に採取できた尿の(THF+alloTHF)/THE比を胎盤11 β HSD2活性の指標とし、33%タイルで3群(活性の高いHigh群19名、活性の低いLow群21名、中間のMiddle群21名)に分け尿中ステロイドの経過と新生児疾患の有無を比較検討した。

3群間で在胎期間、出生体重をはじめ臨床背景に差を認めなかった(表1)。(THF+alloTHF)/THE比は生後1週以降は3群間で差を認めなかった。生後1週のDHEAがHigh群でLow群より有意に高値だった。High群、Middle群、Low群において入院中の動脈管開存症(PDA)に対するインドメタシン投与回数はそれぞれ1.2 \pm 1.1、1.7 \pm 1.1、5.5 \pm 1.1回、人工換気日数は12.3 \pm 6.9、14.4 \pm 17.5、33.1 \pm 45.6日と有意にLow群が多かった。未熟児網膜症(ROP)のレーザー光凝固治療、低血圧に対するカテコラミンとステロイド使用もLow群で多い傾向を認めた(表2)。Low群においては胎児副腎の母体胎盤依存性が残存し、副腎成熟が不十分なため重症度を高めていることが考えられた。

(表 1) 各群における臨床背景の比較

	High群(21)	Middle群(21)	Low群(19)
sex(male)	8/19	13/21	11/21
初産	13/19	8/21	10/21
陣発	13/19	9/21	12/21
C/S	15/19	19/21	12/21
在胎期間	29.5±3.5	30.0±3.6	28.9±4.2
出生体重	1423.5±585.6	1460.4±538.9	1378.2±689.1
BW-SD	0.02±0.57	-0.09±0.54	0.11±0.75
出生頭囲	27.3±3.5	27.7±3.7	28.0±5.6
HC-SD	-0.04±0.73	0.05±0.68	0.69±0.29
出生身長	37.2±5.0	37.4±4.2	36.8±5.8
HI-SD	-0.75±0.53	-0.90±0.84	-1.31±3.65
Apgar(1)	6.9±1.8	6.4±2.4	6.7±1.8
Apgar(5)	8.7±1.0	8.4±1.4	8.3±1.0
cord pH	7.36±0.03	7.33±0.02	7.32±0.03
母体ステロイド0	11/19	10/21	12/21
母年齢	30.6±4.1	32.4±1.2	31.6±1.3
母合併症なし	15/19	15/21	17/21
母PIH	2/19	3/21	3/21
母HT	2/19	2/21	3/21

(表 2) 各群における新生児疾患の比較

	High群(21)	Middle群(21)	Low群(19)	p
RDS	9/19	12/21	8/21	ns
CLD全体	7/19	7/21	11/21	ns
CLD(II)	2/19	3/21	7/21	0.11
IMV日数	12.3±17.3	14.4±17.5	33.1±45.6	0.03
ROP (光凝固)	2/19	4/21	8/21	0.08
IVH	4/19	3/21	7/21	ns
PVL	3/19	2/21	4/21	ns
NEC	1/19	1/21	0/21	ns
早期カテコラミン	6/19	7/21	11/21	0.14
早期ステロイド	1/19	2/21	6/21	0.06
晩期循環不全	0/19	1/21	2/21	ns
PDA	2/19	4/21	8/21	0.08
インダシン回数	1.6±1.1	1.7±1.1	5.5±1.1	0.01
子宮内感染	6/19	1/21	7/21	0.08

また、早産児の副腎はコルチゾール産生能の低い胎児層の退縮が遅れ、束状層の成熟が遅いため副腎不全に陥りやすいと考えられている。一方、子宮内感染は臨床的に胎児を成熟させることを経験するが、子宮内感染が早産児の胎児層退縮にどのような影響しているかは不明な点が多い。そこで最終年度は、子宮内感染が早産児の副腎機能に与える影響を検討した。

対象は在胎期間 30 週以下の AGA の早産児のうち、生後早期から尿検体を採取できた 30 名を子宮内感染あり (11 名)、子宮内感染なし (19 名) の二群で、生後 48 時間以内、1 週、2 週、1 ヶ月、2 ヶ月、3 ヶ月の尿を用いて LC-MS/MS を用いて尿中ステロイド (コルチゾール代謝物: THF、alloTHF、コルチゾン代謝物: THE、胎児層由来ステロイド: DHEA) を測定した。

二群間で在胎期間、出生体重に差を認めなかったが、子宮内感染あり群で有意に女児、経産が多く、RDS の罹患率が高かった (表 3)。

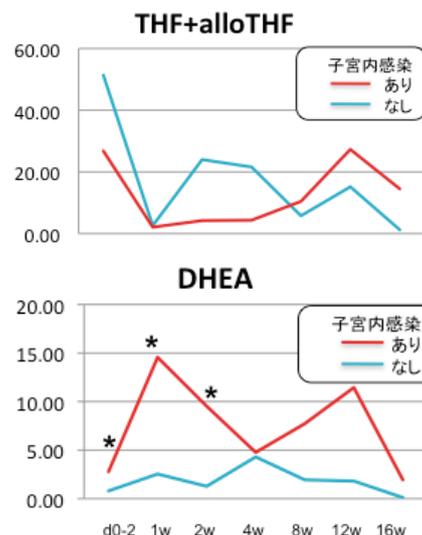
また、コルチゾール代謝物の (THF+alloTHF) は二群間で差を認めなかったが、胎児層由来の DHEA は生後 1、2 週において子宮内感染あり群が子宮内感染なし群より有意に高値だった (生後 1 週; 14.6±19.1 vs. 2.5±3.9, p=0.005、生後 2 週; 9.5±11.3 vs. 1.3±1.4, p=0.006)。 (図 1、2)

子宮内感染あり群で胎児層由来のホルモンが高値で、両群にコルチゾール代謝物に違いを認めないことから、子宮内感染は胎児層退縮を促しておらず、視床下部-下垂体からの副腎刺激が亢進していることが示唆された。

(表 3) 子宮内感染の有無による臨床背景の比較

	IUIなし(18)	IUIあり(11)	p
性別(男児)	12/18	3/11	ns
初産	13/18	3/11	0.02
陣発	13/18	9/11	ns
C/S	15/18	6/11	ns
在胎期間(週)	26.3±1.7	26.4±2.0	ns
出生体重(g)	859.4±241.5	872.1±5215.4	ns
BW-SD	-0.1±0.73	-0.06±0.68	ns
出生頭囲(cm)	24.0±2.2	24.6±3.9	ns
HC-SD	-0.04±0.73	0.15±2.00	ns
出生身長(cm)	32.9±3.2	33.3±2.7	ns
HI-SD	-0.60±1.02	-0.58±0.68	ns
Apgar(1)	6(2-8)	7(3-9)	ns
Apgar(5)	8(5-10)	9(5-9)	ns
cord pH	7.30±0.17	7.38±0.04	ns
母体ステロイド	10/18	10/11	<0.05
母年齢 (歳)	29.1±4.9	32.8±6.5	ns
母合併症なし	15/18	10/11	ns
母PIH	3/18	0/11	ns
母HT	3/18	0/11	ns
RDS	17/19	4/11	0.004

(図 1.2) THF+alloTHF と DHEA の経時推移



以上の結果から、早産児は胎盤 11β HSD2 により母体からのステロイド暴露から守られており、この活性が低くステロイド暴露を多

く受けている児ほど自身の副腎機能は抑制されており、新生児期の重症度を増していることが示唆され、有意差のあった呼吸器疾患、動脈管開存症、未熟児網膜症、低血圧の重症度には相対的副腎不全が関与している可能性が示唆された。

また、子宮内感染は胎児発育を促進することが臨床的に示されているが、副腎においては胎児層の退縮は促されておらず、視床下部-下垂体-副腎系の活性化に寄与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

長屋建、藤枝憲二：胎児・新生児期の副腎機能、日本未熟児新生児学会誌、21：33-38、2009

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長屋 建 (NAGAYA KEN)

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号：80396382

(2) 研究分担者

藤枝憲二 (FUJIEDA KENJI)

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：60173407

蒔田芳男 (MAKITA YOSHIO)

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：20271778

林時仲 (HAYASHI TOKITUGI)

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号：40322911