

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500525

研究課題名(和文)人工血液カクテルによる胎児慢性低酸素症の治療法開発

研究課題名(英文)Development of a novel therapy for fetal hypoxia used by artificial oxygen carriers (hemoglobin vesicles)

研究代表者

李 コウ (Li, Heng)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 疾病研究第2部・科研費研究員

研究者番号：70621994

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、「人工酸素運搬体」というナノマイクロ人工血液カクテルを利用したアプローチにより、妊娠高血圧症に伴う重篤な胎児慢性低酸素症を改善する治療法を開発することである。本研究では、「人工酸素運搬体」の実験動物母体・胎盤・胎児組織に対する安全性を確認すると同時に、妊娠高血圧症モデルラットの胎盤・胎児の低酸素状態が「人工酸素運搬体」により改善されること、胎児脳が保護されることを確認した。

研究成果の概要(英文)：Pre-eclampsia affects approximately 5% of all pregnant women and remains a major cause of maternal and fetal morbidity and mortality. The pathophysiology involves insufficient trophoblast invasion, resulting in incomplete narrow placental spiral artery remodeling. Placental insufficiency, which limits the maternal-fetal exchange of gas and nutrients, leads to fetal intrauterine growth restriction. In this study, in our attempt to develop a new therapy for pre-eclampsia, we directly rescued placental and fetal hypoxia with nano-scale size artificial oxygen carriers (hemoglobin vesicles). The present study is the first to demonstrate that artificial oxygen carriers successfully treat placental hypoxia, decrease maternal plasma levels of anti-angiogenic proteins and ameliorate fetal growth restriction in the pre-eclampsia rat model.

研究分野：神経科学

キーワード：人工赤血球 胎児脳 胎児低酸素血症

1. 研究開始当初の背景

「妊娠高血圧症候群」は妊娠 20 週以降、母体に高血圧が認められる症候群で、蛋白尿を伴うケースも認められる。本疾患は妊婦の 4 ~ 8%に発症し、重症例では母体死亡、胎児発育遅滞、胎児・新生児死亡を引き起し、出生後の新生児の発達予後を低下させる周産期医療において重篤かつ高率な疾患の 1 つである。高齢出産は本疾患の危険因子であり、初産の高齢化が進む我が国では早急な治療法の確立が求められる。

本疾患の原因は、胎盤血管発生に役割を果たすトロホブラストの子宮への浸潤不全とそれに伴う胎盤血管の狭小化であることが最近明らかになってきた。胎盤病理より妊娠高血圧症候群症例では、胎盤脱落膜・子宮筋層へのトロホブラストの浸潤が浅く、かつ胎盤脱落膜中の螺旋動脈壁が肥厚し血管径が狭小化していることが指摘されている。つまり、螺旋動脈の血行不全により胎盤に十分な血液循環が維持できず、母体では血管内皮障害が発生し、胎児が低酸素状態になることが本疾患の主な病態である。

これまでの研究ではトロホブラスト浸潤不全のメカニズムを解明し、その因子を取り除き本疾患を治療しようとする戦略が取られてきた。実際、トロホブラスト浸潤不全には細胞接着因子(細胞基質分解酵素(MMP)・インテグリン・VCAM-1)や免疫因子(NK細胞・Th1型サイトカイン)が関与することが明らかになってきた。しかし残念ながら明確な関連因子および病態システム全体を特定するには至っていない。今後も長期にわたる関連因子の探索研究が継続することが予想され、「妊娠高血圧症候群」に対する根本的な治療法は現在確立していない。

2. 研究の目的

人工酸素運搬体にて、妊娠高血圧症候群に伴う重篤な胎児慢性低酸素症を改善する治療法を開発する。

我々は視点を換え、これまでの「胎盤形成期における螺旋動脈の狭小化に対する予防治療」でなく「胎盤形成後の既に狭小化した螺旋動脈に対応する治療法」を本研究で開発する。具体的には狭小化した螺旋動脈においても通過可能な通常赤血球より小型で、かつ高い酸素運搬能をもつ「人工酸素運搬体(ヒト型ヘモグロビンより再合成)」を利用し胎盤組織の低酸素状態を改善する。「人工赤血球」はこれまでの我々の研究から脳梗塞といった局所血流障害由来の病態に有効であることが明らかになった(Kawaguchi AT, et al. Stroke. 2007 38:1626-32)。本研究ではラット動物モデルを使用し、「人工赤血球」が胎児救急蘇目的に合致した新しい「ナノマイクロ人工臓器」治療法となるかどうかを検討する。

3. 研究の方法

これまで妊娠高血圧症モデルとして NO 合成酵素阻害剤(L-NAME)を妊娠中~後期に慢性投与したラットモデルが多くの研究で使用されてきた。我々も同様の研究を行い、L-NAME 投与中止後も母体高血圧が持続し胎児発育遅延が起こることを確認し、最適なモデルとして選択した。

本研究で使用する「人工酸素運搬体」はヘモグロビン(Hb)などの酸素運搬体をリポゾーム膜内に封入するナノカプセル型「人工赤血球」であり、構造・機能・代謝経路などが自然の赤血球に類似し安全であることが判ってきた。半減期が約 30 時間とまだ短く代替物としては不十分だが、人工臓器として赤血球にはない以下のような長所も明らかにな

ってきた。

- ・超微細サイズ（直径 230nm）なので毛細血管までくまなく還流する
- ・肺で酸素化され、繰り返し循環するため少量でも有効で、血漿の酸素化ともいえる。
- ・血液型・動物種にかかわらず使用可能である。

本研究では、申請者らが「妊娠高血圧モデルラットに対する「人工酸素運搬体」の投与し、「人工酸素運搬体」が、胎盤の慢性低酸素下の「胎児脳の保護」に有効か否かを検討する。

[対象] Wistar 系妊娠ラット

[方法]

慢性実験系の作成

妊娠 12 日(満期 22 日)に麻酔下にて母獣の内頸動脈に血管カテーテルを挿入しヘパリン生食にてカテーテルを維持する。手術後、妊娠 14-21 日の 7 日間、NO 合成酵素阻害剤 (L-NAME) を投与し妊娠高血圧症モデルを作成する。また、妊娠 14-21 日の 7 日間に「人工酸素運搬体」と L-NAME を同時投与し、胎盤循環不全の治療を試みる。

評価指標

(1) 妊娠ラット高血圧の評価

妊娠 14 日目から 7 日間連日動脈圧を測定する。

(2) 胎盤機能評価

胎盤組織低酸素状態を免疫染色法で評価する。更に、母体子宮静脈より樹脂メルコックスを注入し毛細管を含め血管形態を本来の状態で保持し、胎盤血管の分布・血管径を組織学的に評価する。

(3) 胎児低酸素状態の評価

胎児の全身低酸素状態が生物発光法で評価する。胎児脳の低酸素状態を免疫染色法で評価する。

4. 研究成果

胎児慢性低酸素症を改善するための「人工酸素運搬体」の最適投与量を推定すると同時に、「人工酸素運搬体」の胎児組織に対する安全性を、肺成熟・体重増加等にて確認した。これらの研究成果は Life Sciences 誌に発表された。妊娠高血圧症モデルラットの胎盤・胎児の低酸素状態が「人工酸素運搬体」により改善されること、胎児脳が保護されることについての成果をまとめて論文を作成し、現在投稿中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

Kaga M, Li H, Ohta H, Taguchi K, Ogaki S, Izumi H, Inagaki M, Tsuchiya S, Okamura K, Otagiri M, Sakai H, Yaegashi N、Liposome-encapsulated hemoglobin (hemoglobin-vesicle) is not transferred from mother to fetus at the late stage of pregnancy in the rat model., Life Sciences、査読有、Vol. 91、2012、pp. 420-428
DOI:10.1016/j.lfs.2012.08.021

[学会発表](計 4 件)

太田英伸、妊娠高血圧症候群に対する人工赤血球を用いた治療法の開発、第 52 回日本人工臓器学会、2014 年 10 月 17 日、札幌京王プラザホテル

太田英伸、妊娠高血圧症候群に対する人工赤血球を用いた新しい治療法の開発、第 20 回日本血液代替物学会年次大会、2013 年 12 月 6 日、奈良県新公会堂

李 コウ、ラット妊娠母体におけるヘモグロビン小胞体の胎盤通過性、第 86 回日本薬学会年会、2013 年 3 月 23 日、福岡国際会議場

太田英伸、ラット妊娠母体におけるヘモグロビン小胞体の胎盤通過性、第 19 回日本血液代替物学会年次大会、2012 年 10 月 26 日、旭川大雪クリスタルホール

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

李 コウ (LI, Heng)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・疾病研究第二部・科研費研究員

研究者番号：70621994

(2) 研究分担者

稲垣 真澄 (INAGAKI, Masumi)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所・知的障害研究部・部長

研究者番号：70203198

酒井 宏水 (SAKAI, Hiromi)

奈良県立医科大学・医学部・化学教室・教授

研究者番号：70318830

太田 英伸 (OHTA, Hidenobu)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所・知的障害研究部・室長

研究者番号：80422103