

令和 3 年 6 月 6 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07826

研究課題名(和文) 磁気共鳴分光法を用いた脳内代謝物質による新生児重症仮死の高精度予後予測法の確立

研究課題名(英文) Longitudinal brain metabolic changes in birth asphyxia during the first year of life using Magnetic Resonance Spectroscopy

研究代表者

赤坂 真奈美 (AKASAKA, MANAMI)

岩手医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00405797

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：重症仮死18人(低体温療法11人)に磁気共鳴分光法を、妊娠後週数38-43週、51-76週、85-94週に施行した。発達遅滞ありをA群、なしをB群、仮死のない早産児正常基準値をC群とし、N-acetyl aspartate, gamma aminobutyric acid, creatine, choline, Lactate, glutamate+glutamine, myo-inositol を計測し比較した。A群は、新生児期から経時的変化が他群とは異なることが判明し、MRSは重症仮死の発達予後に有用であるが、低体温療法復温直後のMRSの解釈には注意が必要で、経時的変化が発達予後予測に重要となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症仮死児の脳内代謝物質を高磁場磁気共鳴分光法(MRS)を用いて、生後12か月まで測定し、発達遅滞群、正常発達群に分類し当院早産児正常基準値と比較した。重症仮死の発達遅滞群では永続的な神経細胞障害やグリオーシスを反映し、新生児期早期のみならず、脳内代謝物の経時的変化が明らかに他群と異なることが判明した。我々は早産児の正常発達群における乳児期の経時的脳内代謝物質の計測を行い報告しているが、重症仮死児の経時的なMRS報告はなく、それを明らかにした本研究の学術的意義は大きい。低体温療法復温直後のMRSの解釈には注意が必要であり、経時的変化を見ることが発達予後予測に重要となる。

研究成果の概要(英文)：We performed 3-tesla single-voxel 1H-MRS at 38-43 postmenstrual weeks (PMW : period I), 51-76 PMW (period II) and 85-94 PMW (period III) with 18 severe birth asphyxia infants. Eleven infants were treated with hypothermia. N-acetyl aspartate A, choline, Ins, glutamate+glutamine, Creatin, Lactate, and gamma aminobutyric acid were assessed in the basal ganglia. We assessed developmental quotient at period and divided into two groups. Group A is birth asphyxia with developmental delay and group B is normal development, and group C is normal control with preterm infants. The longitudinal brain metabolites changes in group A was different the other group significantly. MRS is one of the useful tool to predict neurological outcome with birth asphyxia not only period I but also period II and III.

研究分野：小児神経学

キーワード：磁気共鳴分光法 重症仮死 低体温療法 脳内代謝物質 神経発達予後

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

低酸素性虚血性脳症は、新生児の0.1~0.3%に発生し、死亡や脳性麻痺の主要原因となる。急速な少子化が進む中、その予防や早期対策はますます重要となっている。近年、重症仮死に対して動物実験による病態生理の解明が進み、低体温療法(therapeutic hypothermia, TH)などのさまざまな治療の取り組みがなされている。我が国では2010年版新生児蘇生ガイドラインによりHIE予防のためのTHが強く推奨され、近年広く行われているが、その有効性の客観的指標や神経学的予後を予測する方法は確立していない。

HIEには急性神経壊死と遅発性脳損傷があるが、THはおもに遅発性障害を予防するといわれており、生後6時間以内に開始すれば、死亡や皮質下病変が減少することが確認されている(Wyatt JS. Pediatrics 2007)。一方で、THの効果が及びにくい深部灰白質病変の予防効果は十分ではなく、THの課題とされている。また、治療適応基準であるSarnat分類は主治医の主観的な判定を要するが、新生児では必ずしも容易ではない。軽症のため非適応と判断された患児でも、治療可能時間を過ぎた後に症状が出現しHIEを来す例が存在する。従って、THの適応決定および効果予測のための高精度マーカーの登場が求められている。

磁気共鳴分光法(magnetic resonance spectroscopy, MRS)は、放射線被ばくをすることなく無侵襲に神経代謝物質の計測が可能であり、小児に適した脳機能評価法のひとつといえる。重症仮死のプロトン(¹H)-MRS論文はこれまでに数編あり、低酸素の影響を強く受けやすい基底核において、神経細胞活動性のマーカーとされるNAA(N-acetylaspartate)の低下、虚血を反映する乳酸(lactate, Lac)の上昇、興奮性シナプスの神経伝達物質であるglutamine+glutamate complex(Glx)の上昇が予後と関係することが一致した結論として報告されている(Alderliesten T: Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2017, Groenendaal F: Pediatr Res. 2017, Zhu W: Translat Res. 2008)。一方で、グリア細胞のマーカーであるミオイノシトール(myo-inositol, Ins)と(Robertson N: Pediatr Res. 2001, Ancora G: Neuroradiology. 2013)成人では抑制性伝達物質であるGABA(gamma aminobutyric acid)の報告は少ししかなく、かつ一定の結果は得られていない。

高磁場3 Tesla MRIによる高感度¹H-MRSを用い、重症仮死児のGABAやInsを含め乳児期の経時的な脳内代謝物質を測定し、神経学的予後を早期に予測できるマーカーを確立する。

2. 研究の目的

本研究では、重症仮死児(TH実施例、非実施例)を対象に、生後12か月までの前方視的・経時的なMRSによる脳内代謝物の測定を行う。また3か月ごとに、成長および神経学的な評価を行い、生後12か月の時点で正常発達群、発達遅滞群に分類して脳内代謝物質との関連を検討する。上記によって、MRSによる新生児重症仮死の高精度な神経学的予後の予測マーカーを確立することが本研究の目的である。¹H-MRSでは、初回MRIで明らかな異常所見を呈する例では基底核のNAA低値、Lac・Glx高値がみられるものの、MRI所見が軽微な例では一定の変化を認めず、神経学的予後の予測は困難である。最近我々は、低体重児の中等度発達遅滞例では早期の¹H-MRSでNAAに変化を認めないがInsが高値を示すこと(科研費23591513, Akasaka M: Magn Reson Med Sci. 2016)重症仮死で重度発達遅滞となった例では早期の¹H-MRSでInsが低値を示すことを見出した。Insは非重症例ではグリア細胞増殖により高値、重症例ではグリア細胞の消失により低値となることが予測され、重症仮死児の重症度と予後を反映するマーカーとなりうる。

本研究はグリアの変化を反映するInsと、これまでに報告の少ないGABAに着目し、乳児期の

経時的变化により、早期に発達予測をするマーカーを確立することを目的とした。

3. 研究の方法

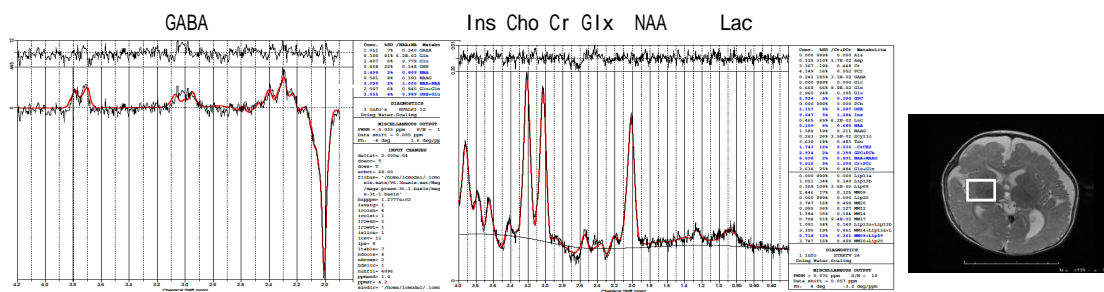
【対象】

当院新生児集中治療室 NICU に入院した重症仮死 18 人（早産児 3 人と TH を 11 人に施行）に 3T^H-MRS を、妊娠後週数 38 から 43 週を 期、51 から 76 週を 期、85 から 94 週を 期として、脳内代謝物を計測した。また当院 NICU に入院歴のある、修正 12 か月まで発達が正常であった早産児 11 人を正常基準値とした。

【方法】

右基底核に関心領域を置き、GABA、NAA、Glx、Ins、Lac、Cr (creatine)、Cho(choline)を計測し、LC Model で解析した（図 1）。TH の適応はガイドライン 2010 に従った。発達は、遠城寺式発達検査で発達指数 70 以上、かつデンバースクリーニングで要注意因子 2 個未満を正常とし、A 群は重症仮死で発達遅滞あり、B 群は重症仮死で発達正常、C 群は早産正常発達で基準値とした。

図 1 プロトン(1H)-MRS



4. 研究成果

症例の内訳を示す（表 1）。重症仮死 A・B 群と、正常基準値 C 群を中央値で比較し、統計は Mann-Whitney U 検定を行い $p < 0.05$ を有意差ありとした。MRS 施行週数の 期のみと、アプガースコアは 1 分・5 分・10 分値で有意差があったが、そのほかに有意差は認めなかった。

表 1 症例の内訳

	重症仮死 (A・B 群)	正常基準値 (C 群)	p 値
症例 (男児)	18 (13)	11 (2)	
発達遅滞	A 群 = 5 B 群 = 13	なし = 11	
低体温療なし (あり)	7 (11)	11	
期 MRS 施行週数 (週)	41 (39-42)	修正 40 (40-41)	0.64
体重 (g)	2857 (2659-3621)	2670 (2404-3220)	0.29
症例数	18	11	
期 MRS 施行週数 (週)	66 (60-67)	修正 66 (65-67)	0.05
症例数 (除外例)	11 (鎮静不能 3、遠方 1、超重症 3)	11	
期 MRS 施行週数 (週)	92 (90-92)	修正 93 (92-93)	0.01
症例数 (除外例)	8 (鎮静不能・感染症 6、遠方 1、超重症 3)	11	
Apgar 1 分値	1 (1-2)	4 (2-8)	<0.01
Apgar 5 分値	3 (3-5)	8 (5-9)	<0.01
Apgar 10 分値	6 (3-7)	8 (8-9)	<0.01

中央値 (四分位) Mann-Whitney U 検定

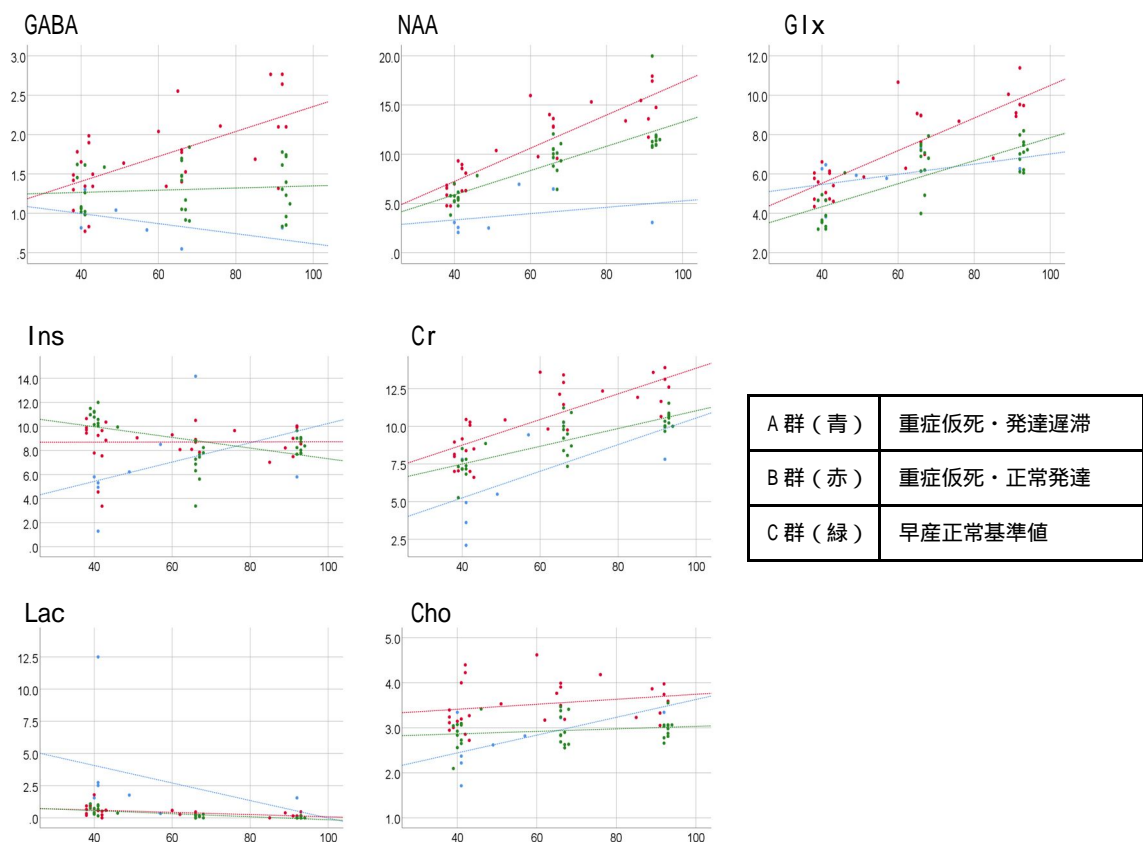
【結果】

成人では、脳内代謝物質は通常 Cr や Cho を内部指標とし比で表すが、Cr、Cho とともに乳児期

は劇的に変化するため、生データの経時的変化を示した（図2）。A群は青、B群は赤、C群は緑で、横軸は妊娠後週数である。A群 期が1例のみでありかつMRS施行週数に有意差があったため、統計処理はせず、全例をプロットした。

GABAは、B群は上昇、C群は横ばい、A群は低下、NAAは3群すべて経時的に上昇するが、A群は最も上昇率が低く、B群は最も上昇した。Glxは、A群 期は高値であるが、その後は経時的な変化が少なく、 期には低値になった。InsはB・C群は経時的に低下したが、A群は経時的変化が他群と異なり、II期で上昇、III期で低下した。Crは3群とも上昇するが、A群は常に最も低値で推移した。Lacは 期A群が著しく高値で、その後経時的に低下した。Choは、 期A群は低値でその後徐々に上昇した。

図2 脳内代謝物質の経時的変化



【考察】

過去の論文では、HIEは新生児早期のNAA・Cho・Crの低値、Lac・Glxの高値がその後の発達予後不良因子であると報告されている。我々の結果も 期は同様で、このことは神経細胞活動性や脳内ミトコンドリア機能の低下、軸索機能不全やシナプス形成不全を示唆していると考えられる。生後12か月までの経時的な変化については、過去に報告がない。我々の結果では、A群は新生児期のみならず、その後の経時的にすべての脳内代謝物質において他群と大きく異なり、永続的な神経細胞障がいやグリオーシスを反映しているものと考えた。MRSによる重症仮死児の新生児およびその後の経時的変化は予後予測に有用である。

GABAは、成人の脳では抑制性神経伝達物質であるが、発達段階の脳では、神経の発生や細胞移動、シナプス形成などに深くかかわっており、多様な役割をしていることが知られている。GABA介在ニューロンは妊娠中期から長期にわたり発達し、母体ストレスや感染、児の虚血、早産などの影響を受けやすく、GABA前駆細胞の密度が、移動遅延によって皮質板で減少すること

が近年報告されている。我々の結果では、一過性の虚血を伴う重症仮死であってもその後の発達が正常であった B 群では上昇し、早産児 C 群は横ばいで、重度 HIE の A 群では低下していた。MRS の GABA は、重度の虚血と早産による影響を反映し、検出が可能であると考え。ただし、重症仮死の 8 割が TH を受けており、I 期のデータは治療後の影響を否定できない。過去の論文では phospho creatine は低体温中は 20% 高値で、これは、細胞ホメオスターシス維持のエネルギー供給に重要な役割をはたし、ATP とともに解糖系の代替エネルギーとして、仮死児のエネルギー枯渇時に重要な役割を果たしているためではないかと考察されている。また、glutamate と GABA は低体温中は低値であったとの報告もある。TH は、エネルギー代謝を減らすのみならず、glutamate や新生児期に興奮性作用を示す GABA を減らすことで、けいれんを抑制している可能性があると考えられている。そのほかに、動物実験では低体温中の NAA と Cho が低値であったという報告もある。TH の児においてはその予後予測には新生児期の MRS のみならず、我々が示したようなその後の経時的変化を評価することが重要と考える。

【結語】MRS は重症仮死発達遅滞群において、I 期のみならず乳児期の経時的な変化が他群と大きく異なり、予後予測に有用であった。特に TH 児 I 期の MRS は、治療の影響を受けており、脳内代謝物質の解釈には注意が必要で、その後の経時的変化が重要となる。GABA は重度の虚血や早産の影響を受けていることを MRS でも明らかにできることが示唆された。ただし A 群は超重症児が多く III 期に MRS を施行できたのが 1 人のみで詳細な検討ができず、今後症例の蓄積が必要である。

参考文献

1. Robertson NJ et al: *Pediatr Res* 50, 692-700, 2001.
2. Zhu W et al: *Translational Research*, 225-32, 2008.
3. Groenendaal F et al: *Pediatric Research* 81, 150-5, 2017.
4. Shibasaki J et al: *Radiology*, 298, 840-848, 2018.
5. Zou R et al: *Frontiers in Neurology*, 9:1-13, 2018.
6. Shibasaki J et al: *Radiology* 288, 840-848, 2018.
7. Ancora G et al: *Brain and Dev* 32, 835-42, 2010.
8. Ancora G et al: *Neuroradiology* 55, 1017-25, 2013.
9. Barta H et al: *BMD Pediatr* 18, 1-11, 2018.
10. Ford TC et al: *Frontiers in molecular neuroscience* 9, 1-27, 2016.
11. Alderliesten T et al: *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*; 102, 147-52, 2017.
12. Agrawal S, et al. *Pediatrics* 2018;142:e20180134. doi.org/10.1542/peds.2018-0134
13. Ream MA et al. *Current Neurology and neuroscience reports* 2018;18:2-10.
14. Montagna A et al. *Plos one*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224343>, 2020;1-14.
15. Kubo K et al: *J Obstet Gynecol Res* 46, 2020.
16. Wisnowski JL et al: *JCBFM* 36, 1075-86, 2016.
17. Niu XQ et al: *Genetics and molecular research* 14, 12959-12605, 2015.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 赤坂真奈美, 亀井 淳, 谷藤幸子, 松本 敦, 外館玄一郎, 小西 雄, 鳥谷由貴子, 高清水奈央, 小山耕太郎.
2. 発表標題 重症仮死児の経時的な磁気共鳴分光法所見
3. 学会等名 第14回小児放射線研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 赤坂真奈美, 亀井 淳, 谷藤幸子, 松本 敦, 外館玄一郎, 小西 雄, 鳥谷由貴子, 高清水奈央, 小山耕太郎.
2. 発表標題 重症仮死児の経時的な磁気共鳴分光法所見
3. 学会等名 第64回日本新生児成育医学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 赤坂真奈美, 亀井 淳, 谷藤幸子, 松本 敦, 外館玄一郎, 小西 雄, 鳥谷由貴子, 草野修司, 高清水奈央, 小山耕太郎.
2. 発表標題 重症仮死児の低体温療法施行群と非施行群における磁気共鳴分光法所見
3. 学会等名 第63回日本新生児成育医学会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤坂真奈美, 亀井 淳, 谷藤幸子, 浅見麻耶, 水間加奈子, 伊藤潤, 小山耕太郎.
2. 発表標題 重症仮死児の生後1歳までの経時的な磁気共鳴分光法所見
3. 学会等名 第26回日本小児神経学会東北地方会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 赤坂真奈美, 亀井 淳, 谷藤幸子, 松本 敦, 外館玄一郎, 小西 雄, 鳥谷由貴子, 高清水奈央, 小山耕太郎.
2. 発表標題 重症仮死児の生後1歳までの経時的な磁気共鳴分光法所見
3. 学会等名 第65日本新生児成育医学会総会・学術集会
4. 発表年 2021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
研究分担者	亀井 淳 (KAMEI ATSUSHI) (70275551)	岩手医科大学・医学部・特命教授 (31201)	
研究分担者	佐々木 真理 (SASAKI MAKOTO) (80205864)	岩手医科大学・医歯薬総合研究所・教授 (31201)	

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
---------	---------