

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 吉野 秀昭
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 944 号
学位授与の日付 令和2年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 極低出生体重児の血漿成長因子・サイトカイン濃度の検討

論文審査委員 主査 教授 高桑 好一
副査 教授 曾根 博仁
副査 特任准教授 藤原 和哉

博士論文の要旨

【背景と目的】未熟児網膜症(retinopathy of prematurity: ROP)は血管が未発達な周辺部網膜の虚血により血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)をはじめとする血管成長因子やサイトカインが産生され、病的新生血管が形成され発症する。VEGF やアンギオポエチン、肝成長因子(Hepatocyte growth factor: HGF)などが重症 ROP の眼内から検出される。近年重症 ROP の治療に抗 VEGF 抗体の硝子体内注射を行った報告がなされ、予後改善の期待が寄せられている。しかし全身への影響が懸念されている。現在、ROP の管理は頻回の眼底検査に依存しているが眼底検査そのものが未熟な患児には負担となる。血中の血管成長因子の推移と ROP 重症化との関連が明らかとなれば採血が眼底検査を補うものとして児の負担軽減が期待される。そのため、極低出生体重児の血漿中の VEGF をはじめとした血管成長因子を測定しその意義を検討した。

【方法】本研究はヘルシンキ宣言に則り、新潟大学医歯学総合病院と長岡赤十字病院の倫理委員会の承認を得た後、患児の父母に対し文書による同意を得て実施した。

2017年1月から2年間、長岡赤十字病院新生児集中治療室に入室した極低出生体重児(18例男児12例、女児6例)を対象とした。採血が全身状態を悪化させる恐れのある症例、父母から同意を得られない症例は除外した。

採血は児の健康を最優先とするため新生児科の全身状態把握の採血に併せてのみ行った。新生児科が実施可能と判断したときのみ、研究に供する採血を行った。200 μ Lの全血を遠心分離して血漿を得た後-80 $^{\circ}$ Cで凍結保存した。

血漿中濃度測定はBio-Plex Pro ヒトサイトカイン スクリーニング 48-Plex パネル(バイオ・ラッドラボラトリーズ(株))を用いmultiplex assayを行った。同一ロットのスタンダード試料、抗体ビーズを用い検体ごとに2ウェルを用い同時測定した。

診断には点眼液による散瞳後に眼底検査を行った。病期は国際分類に準拠し、光凝固の適応は ETROP study の基準に則った。ROP を発症しなかった群(未発症群; no ROP)、発症後に光凝固を要さず自然寛解した群(自然寛解群; remission)、発症後網膜光凝固を行い寛解した群(光凝固群; treat)に分類した。

【結果】18例が研究に参加し、6例は採血なく退院した。修正在胎週数33から35週の間9症例(男児7例、女児2例)で検体を得た。3例が未発症群、3例が自然寛解群、3例が光凝固群だった。その他の3例はこの期間外に検体を得た。未発症が2例で32週と37週での採血だった。残る1例は発症後自然寛解し30週で検体を得た。各群とも検体が少数のため、統計学的検討は行わず、傾向を確認するため採血の時期が近い上記9例で各項目の濃度を群別に列挙した。未発症群、自然寛解群、光凝固群でそれぞれ血漿中 VEGF 濃度は159.6, 97.4, 114.9 pg/mL だった。全48項目の中で HGF, interleukin-1 alpha; IL-1 α , stromal cell-derived factor-1 alpha; SDF-1 α , stem cell growth factor - beta; SCGF- β が、光凝固群では濃度が小さい傾向があった。

【考按】抗 VEGF 抗体の硝子体注射により血中に抗体が流出し、血清 VEGF 濃度が低下することが報告されている。網膜光凝固後に ROP の改善に伴い血中の VEGF 濃度が低下することが報告されている。血中 VEGF 濃度と ROP の病勢との関連の有無は報告により異なる。Hellgren らの報告では ROP の重症化前の修正在胎週数34~36週に未発症群よりも光凝固群で VEGF 濃度が高かった。一方で Pieh によると ROP 発症時期となる修正在胎週数34週の前前後で VEGF 濃度に差はなかった。本報告では光凝固前に近い時期で SDF-1 α 、HGF などの値が小さい傾向があり、VEGF には認めなかった。Hellgren らや Pieh らの報告とあわせると、単一時点での比較では成長因子の血中濃度変化を捉えきれない可能性が考えられる。ROP を発症した時期、増殖変化が強まった時期が検討に特に重要と考えられる。

本報告では SCGF- β 、IL-1 α 、SDF-1 α 、HGF の血漿中濃度が光凝固群で少ない傾向があった。SCGF- β は血球の成長を促進するサイトカインであり、本報告の結果の理由をすべて ROP の有無に求めるのは難しい。SDF-1 は網膜血管の発生に不可欠なサイトカインで血管内皮細胞の遊走や VEGF 産生を誘導する。HGF は血管内皮細胞の運動能を亢進させ、管腔形成に関与する。それぞれ重症 ROP の眼内から検出される。眼虚血モデルマウスではヒト HGF の硝子体注射による網膜保護作用が報告され、HGF は血管新生と対立して虚血網膜の保護作用を併せ持つと考えられる。ROP との関連は未だ不明だが、SDF の低下が未発達な網膜の正常な成長を阻害する可能性や、HGF の低下が虚血網膜の細胞死をもたらす ROP 重症化につながるといった病態が考えられる。しかし既報において VEGF の血中濃度が ROP の経過を通して常に高値でなかったことと同様に、種々の成長因子濃度が時期により変化する可能性はある。ゆえに、VEGF 単一ではなく SDF-1 α 、HGF など複数の成長因子の濃度変化と ROP の病状の変化を経時的に検討する必要がある。血中の成長因子の濃度変化と ROP の重症化との関係を見いだせれば、血中濃度測定が眼底検査を補うもの、さらには重症化のマーカーとしての役割を果たすことが期待できる。

審査結果の要旨

未熟児網膜症 retinopathy of prematurity (ROP)は網膜血管が未熟な低出生体重児の網膜の虚血により血管内皮増殖因子 vascular endothelial growth factor (VEGF)をはじめとした血管成長因子が産生されることで発症する。

抗 VEGF 抗体の硝子体注射が ROP の治療に用いられ成果を示しているが抗体の血中への漏出による児の成長への影響が懸念されている。

本研究では極低出生体重児について、ROP を未発症の群、ROP を発症したが自然寛解した群、ROP を発症し網膜光凝固治療を要した三群に分け血漿中の成長因子、サイトカインを multiplex assay により測定した。その結果、Hepatocyte growth factor (HGF)、interleukin -1 alpha (IL-1 α)、stromal cell-derived factor 1 - alpha (SDF-1 α)、stem cell growth factor - beta (SCGF- β)が網膜光凝固を要した群で血漿中濃度が小さい傾向を明らかにした。VEGF についてはこれを認めなかった。HGF には虚血網膜の保護作

用が認められており、SDF は網膜血管の発生に不可欠とされるサイトカインである。これらの不足が ROP の重症化に関与している可能性がある。

本研究の結果は血漿中の成長因子、サイトカイン濃度と ROP の重症化との相関の程度を検討する必要があることを示し、採血が低出生体重児にとって負担となる眼底検査を主体とした現在の ROP の管理の一助となる可能性を示したもので学位論文としての価値を認める。