



Metabolomics analysis of umbilical cord blood clarifies changes in saccharides associated with delivery method

Hashimoto, Fusako

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2014-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第5992号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005992>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

Metabolomics analysis of umbilical cord blood clarifies changes in saccharides associated with delivery method

臍帯血のメタボローム解析による分娩方法と臍帯血中糖類の変動との関係性についての検討

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

小児科学

(指導教員：飯島一誠教授)

橋本 総子

出生時の胎児や母体のストレスは分娩方法に強く相関する。経産分娩で出生した児は、帝王切開で出生した児と比較し、母子ともに分娩時のストレスホルモンが多いと報告されている。また、第1子は第2子以降の児よりも、コルチゾール濃度が有意に高く、また、自然分娩で出生した児の血糖は、帝王切開で出生した児よりも有意に高いという報告も散見される。

メタボローム解析は、低分子量代謝産物を網羅的に解析するものであり、最近は医学分野においても、その手法を用いた研究が広く報告されている。例えば、肺がん、膵臓がん、大腸がんやその他消化器疾患での研究、周産期分野では、神経管欠損や子宮内胎児発育遅延児の研究、また、臍帯静脈の内皮細胞を用いた報告もある。しかし、臍帯血を用いたメタボローム解析は未だ報告が少ない。そこで我々は、臍帯血を用いてメタボローム解析を行い、分娩時のストレスと代謝産物との関連性について検討した。

本研究では、2010年12月から2011年5月までにパルモア病院を受診した妊婦60人に説明を行い、うち54人で同意を得た。母体への抗生剤投与、心室中隔欠損症の児、低出生体重児、子宮内発育遅延児、情報不足の12人、および、母体甲状腺機能亢進症から出生した児の1人を除外し、計41人を本研究の対象とした。薬剤投与を行わず自然分娩となった19人(自然分娩群)、分娩時に母体へのプロスタグランジンE₂、あるいは、オキシトシンの投与、および、その両方の投与を行った16人(誘発分娩群)、選択的予定帝王切開で分娩となった6人(帝王切開群)の3群に分けた。3群間に性別、出生体重、apgar score、母体の妊娠前のBMI、母体の妊娠中の体重増加に有意差はなかった。しかし、帝王切開群では、他の2群と比較して在胎週数が有意に低く、経産婦が有意に多かった。

分娩後、速やかに臍帯動脈血を採取し、10分間の遠心分離後、血清のみを-80℃で保管し、ガスクロマトグラフィー/マススペクトロメトリー(以下GC/MS)を用いて代謝産物の解析を行った。Steel-Dwass検定を用いて代謝産物

の変動について評価し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

はじめに、ヘキソキナーゼ法にてグルコースの値（通常の血糖値）を3群間で比較した。その結果、帝王切開群と比較し、自然分娩群、および、誘発分娩群では有意に高く、これは、以前の報告と一致しており、分娩ストレスによるグルコースの上昇が考えられた。

次に、メタボローム解析により分析された代謝産物を3群間で比較検討した。帝王切開群と比較して自然分娩群、および、誘発分娩群で高値を示した、つまり、ヘキソキナーゼ法を用いたグルコースと同様の変動を認めた代謝産物は7個存在した。それらは、グルコース($p=0.003$)、グルクロン酸($p=0.003$)、フルクトース($p=0.003$)、マンノース($p=0.023$)、アロース($p=0.042$)の5つの糖類、および、イノシトール($p=0.004$)、シスチン($p=0.002$)であった。

これらの代謝産物が分娩時のストレスを反映するという仮説をたて、次の検討を行った。この仮説を証明するため、帝王切開群を除外した経膈分娩のみを、初産婦群と経産婦群の2群に分け、メタボローム解析により分析された代謝産物を比較することとした。自然分娩群19人、および、誘発分娩群16人の計35人を、薬剤投与の有無を問わず、初産婦26人と経産婦9人の2群に分けた。2群間の患者背景に有意差を認めなかった。

メタボローム解析の結果は、経産婦群と比較して初産婦群で有意に高値を示した代謝産物は81個中5個存在し、それらは、グルコース($p=0.042$)、グルクロン酸($p=0.048$)、フルクトース($p=0.010$)、マンノース($p=0.020$)、アロース($p=0.043$)の5つの糖類であった。

結果のまとめを次に示す。グルコース、グルクロン酸、フルクトース、マンノース、アロースの5つの糖類と、イノシトール、シスチンの2つの代謝産物は、帝王切開群と比較し、経膈分娩群（自然分娩群、および、誘発分娩群）で有意に高値を示した。経膈分娩群の中でも、プロスタグランジンE₂やオキシトシンの投与を行った誘発分娩群では、自然分娩群よりも高値を示した。また、

経膈分娩のみで検討した結果、グルコース、グルクロン酸、フルクトース、マンノース、アロースの5つの糖類は経産婦群と比較し、初産婦群で有意に高値を示した。

臍帯血のメタボローム解析において、共に有意差を認めた5つの糖類と分娩方法との関係性について考察した。グルコースにおいては、新生児の血糖値は、陣痛のない帝王切開と比較し、経膈分娩で有意に高値を示し、分娩時のストレスの影響で血糖値が上昇することが報告されている。また、臍帯血中におけるコルチゾール、プロゲステロンのストレスホルモンを測定した報告では、帝王切開群と比較し、正常分娩で有意に高かった。分娩ストレスによりストレスホルモンの増加が、血糖上昇に影響したと指摘されており、我々の結果も同様であった。しかし、帝王切開で出生した児は、自然分娩、および、誘発分娩で出生した児と比較して在胎週数が有意に少なく、胎児の糖の貯蓄期間が短いため、血糖が低値である可能性が考えられる。また、帝王切開群の母体は術前に輸液を施行し、その影響で胎児へのインスリン増加があった可能性も考えられる。しかし、初産婦の分娩は経産婦よりもストレスが強く、初産婦が経産婦の児よりもグルコースが高値であり、やはりグルコースがストレスと関連していることが示唆された。

グルクロン酸はグルコースの酸化物であり、グルコースの変動がグルクロン酸に反映していると考えられた。

フルクトースは、主として、果物などに含まれる天然の糖分である。体内で消化や分解の過程を経ずにエネルギー化できる。胎児自身がフルクトースを産生し、臍帯血にもフルクトースが存在する。我々の結果では、帝王切開児で低く、経膈分娩児で上昇した。臍帯血中のフルクトースは分娩中に増加し、生後も維持している可能性が考えられた。新生児では、フルクトース、グルコース、スクロースは、麻酔と同等の鎮痛作用があることが報告されており、陣痛による胎児の疼痛緩和のため、フルクトースが上昇した可能性も考えられた。

マンノースは神経発生に必要な糖鎖の構成成分である。マンノースは胎盤の栄養膜層に存在するマンノーストランスポーターより取り入れ、胎児自身がマンノースを合成し、徐々に蓄積する。我々の研究では、経膣分娩群でマンノースが有意に高かった。分娩における胎盤機能の低下に伴い、蓄積されたマンノースが臍帯血に放出された可能性を考えた。

アロースは希少糖の1つであり、虚血や再灌流により生じるダメージから臓器を保護する働きがある。例えば、ラットへのアロース投与により肝臓の虚血後の保護作用を確認されている。しかし、分娩時におけるアロースの研究は未だない。陣痛による胎児の潜在的な虚血を保護するため、胎児がアロースを必要としている可能性が考えられた。

経膣分娩で出生した児の臍帯血中の糖類は、帝王切開で出生した児よりも有意に高く、分娩時のストレスが影響している可能性が考えられた。今後、さらなるメタボローム解析を進めることで、新生児のQOL改善の一助となることが期待される。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2383号	氏名	橋本 総子
論文題目 Title of Dissertation	Metabolomics analysis of umbilical cord blood clarifies changes in saccharides associated with delivery method 臍帯血のメタボローム解析による分娩方法と臍帯血中糖類の変動との関係性についての検討		
審査委員 Examiner	主 査 山田 秀人 Chief Examiner 副 査 西尾 久英 Vice-examiner 副 査 栗 健 Vice-examiner		

目的：分娩時のストレスは帝王切開よりも経膣分娩で大きく、また経産婦よりも初産婦で大きいことが報告される。メタボローム解析は、低分子量代謝産物を網羅的に解析するものであり、最近では医学分野においても、広く報告されている。しかし、臍帯血を用いたメタボローム解析は未だ報告が少ない。そこで我々は、臍帯血を用いてメタボローム解析を行い、分娩時のストレスと代謝産物との関連性について検討した。

方法と対象：本研究では、2010年12月から2011年5月までにバルモア病院を受診し同意を得た41人を対象とした。薬剤投与を行わず自然分娩となった19人(自然分娩群)、分娩時に母体へのプロスタグランジンE₂、あるいは、オキシトシンの投与、および、その両

方の投与を行った16人(誘発分娩群)、選択的予定帝王切開で分娩となった6人(帝王切開群)の3群に分けた。

結果：ヘキソキナーゼ法にてグルコース値(通常の血糖値)を3群間で比較した。帝王切開群と比較し、自然分娩群、および、誘発分娩群では有意に高く、これは以前の報告と一致した。ヘキソキナーゼ法を用いたグルコースと同様の変動を認めた代謝産物は、81個中7個存在した。それらは、グルコース、グルクロン酸、フルクトース、マンノース、アロースの5つの糖類、および、イノシトール、シスチンであった。

これらの代謝産物が分娩時のストレスを反映する、という仮説をたてた。経膣分娩のみを、初産婦群26人と経産婦群9人の2群に分け解析を行った。2群間の患者背景に有意差を認めなかった。メタボローム解析の結果、経産婦群と比較し初産婦群で有意に高値を示した代謝産物は、81個中5個存在した。グルコース、グルクロン酸、フルクトース、マンノース、アロースの5つの糖類であった。グルコース、グルクロン酸、フルクトース、マンノース、アロースの5つの糖類は、帝王切開群と比較し、経膣分娩群(自然分娩群および誘発分娩群)で有意に高値を示し、また経産婦群と比較し、初産婦群で有意に高値を示した。

考察：グルコースにおいては、新生児の血糖値は、分娩時のストレスの影響で血糖値が上昇することが報告される。また、臍帯血中におけるコルチゾール、プロゲステロンのストレスホルモンの増加により、血糖上昇に影響したと指摘されている。しかし、帝王切開で出生した児在胎週数が有意に少なく、胎児の糖の貯蓄期間が短いため、血糖が低値である可能性が考えられる。また、帝王切開群の母体は術前に輸液を施行し、その影響で胎児へのインスリン増加があった可能性も考えられる。初産婦の分娩は経産婦よりもストレスが強く、初産婦が経産婦の児よりもグルコースが高値であり、やはりグルコースがストレスと関連していることが示唆された。

グルクロン酸はグルコースの酸化物であり、グルコースの変動がグルクロン酸に反映していると考えられた。フルクトースは、主として、果物などに含まれる天然の糖分であり、消化や分解の過程を経ずにエネルギー化できる。胎児自身がフルクトースを産生し、臍帯血にもフルクトースが存在する。新生児では、フルクトース、グルコース、スクロースは、麻酔と同等の鎮痛作用があることが報告されており、陣痛による胎児の疼痛緩和のため、フルクトースが上昇した可能性も考えられた。マンノースは、神経発生に必要な糖鎖の構成成分である。マンノースは胎盤の栄養膜層に存在するマンノーストランスポーターより取り入れ、徐々に蓄積する。分娩における胎盤機能の低下に伴い、蓄積されたマンノースが臍帯血に放出された可能性を考えた。アロースは希少糖の1つであり、虚血や再灌流により生じるダメージから臓器を保護する働きがある。陣痛による胎児の潜在的な虚血を保護するため、胎児がアロースを必要としている可能性が考えられた。

経膣分娩で出生した児の臍帯血中の糖類は、帝王切開で出生した児よりも有意に高く、分娩時のストレスが影響している可能性が考えられた。今後、さらなるメタボローム解析を進めることで、新生児の病態把握の一助となることが期待される。

本研究により、グルコース等が分娩時ストレスによって出生児で増加することが明らかとなった。重要な知見を得たものとして、価値ある研究である。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。