

(1)ヒト肺発生 UpToDate ～肺細胞研究ツール開発の現状～

[講師] 大田 千晴 (東北大学病院 小児科)

[要旨]

新生児医療の発展に伴い、超低出生体重児の救命率が上昇してきた一方、肺発生の早期段階 (canalicular period, 胎生(16～)26 週まで)に出生した児における気管支肺異形成症 (BPD)/慢性肺疾患 (CLD)の重症化が問題となっている。これまでにマウスの肺発生については多くの報告があるが^(1, 2), ヒトでは、特に胎生 22 週以降の肺の入手が困難であることから、発生の詳細なメカニズムについては不明な点が多い⁽³⁾。

近年、RNA-seq 解析を用いた発生段階のマウス肺とヒト肺の遺伝子比較解析によって、マウスとヒトの相同性や相違性が明らかになってきた⁽³⁾。また、ヒト iPS 細胞を用いた肺胞上皮細胞の分化誘導法の開発が進み、ヒト肺発生に重要な因子の解析が進んでいる。さらに、肺胞上皮細胞と線維芽細胞を 3D 構築して培養する spheroid/organoid システムが考案され、様々な病態モデルや薬物スクリーニングに使用され始めており、肺発生メカニズム解明の一助となることも期待されている⁽⁴⁾。

本講演では、近年汎用されるようになってきた基礎的な肺発生研究ツールや BPD/CLD 実験モデル、さらに私たちがこれまでに行ってきた、肺細胞種特異的解析⁽⁵⁾、肺胞上皮細胞分離法⁽⁶⁾、および肺胞上皮前駆細胞分離／培養⁽⁷⁾の実際について、紹介し、ヒト肺の謎に迫っていきたいと考えている。

[略歴]

福岡市博多区生まれ、大阪府豊中市育ち

2000 年:東北大学医学部卒業, 東北大学小児科入局

2000 年:東北厚生年金病院小児科

2003 年:北九州市立八幡病院小児救急センター

2004 年:東北大学小児科, 気仙沼市立病院小児科

2005 年:宮城県立こども病院麻酔集中治療科

2008 年:Michigan State University, Department of Physiology, Bruce Uhal Lab

2010 年:東北大学先進感染症予防学講座(学位:FACS による肺細胞分離・解析)

2015 年:Comprehensive Pneumology Center, Munich, Germany

線維化肺における Hopx の役割⁽⁶⁾

2017 年:東北大学小児科助教

[主な獲得研究費]

1. European Respiratory Society Long Term Research Fellowship (LTRF 2015-4822, 2015-2016).
“Role of cell-specific developmental Wnt signal impairment for chronic lung disease”
2. 日本学術振興会 科学研究費 基盤 C ABCA3 変異を有する2型肺胞上皮細胞前駆細胞を用いた肺胞修復薬剤の探索 (2016-2018)
3. GSK 研究助成 HOPX による肺胞傷害時の Wnt/ β -catenin signaling 制御機構の解明 (2018-2019)

[参考文献]

1. Morrisey EE, Hogan BL. Preparing for the first breath: genetic and cellular mechanisms in lung development. *Dev Cell* 2010; 18: 8-23.
2. Tsao PN, Matsuoka C, Wei SC, Sato A, Sato S, Hasegawa K, Chen HK, Ling TY, Mori M, Cardoso WV, Morimoto M. Epithelial Notch signaling regulates lung alveolar morphogenesis and airway epithelial integrity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113: 8242-8247.
3. Nikolic MZ, Caritg O, Jeng Q, Johnson JA, Sun D, Howell KJ, Brady JL, Laresgoiti U, Allen G, Butler R, Zilbauer M, Giangreco A, Rawlins EL. Human embryonic lung epithelial tips are multipotent progenitors that can be expanded in vitro as long-term self-renewing organoids. *Elife* 2017; 6.
4. Nikolic MZ, Sun D, Rawlins EL. Human lung development: recent progress and new challenges. *Development* 2018; 145.
5. Fujino N, Kubo H, Ota C, Suzuki T, Suzuki S, Yamada M, Takahashi T, He M, Suzuki T, Kondo T, Yamaya M. A novel method for isolating individual cellular components from the adult human distal lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2012; 46: 422-430.
6. Ota C, Ng-Blichfeldt JP, Korfei M, Alsafadi HN, Lehmann M, Skronska-Wasek W, M MDS, Guenther A, Wagner DE, Konigshoff M. Dynamic expression of HOPX in alveolar epithelial cells reflects injury and repair during the progression of pulmonary fibrosis. *Sci Rep* 2018; 8: 12983.
7. Fujino N, Kubo H, Suzuki T, Ota C, Hegab AE, He M, Suzuki S, Suzuki T, Yamada M, Kondo T, Kato H, Yamaya M. Isolation of alveolar epithelial type II progenitor cells from adult human lungs. *Lab Invest* 2011; 91: 363-378.

(2)世界から見た日本の新生児医療:留学・臨床・研究から見てきたもの

[講師] 諫山 哲哉 (国立成育医療研究センター 新生児科 診療部長)

[要旨]

私は、日本での新生児科医トレーニング後、医師 8 年目の 2011 年から 6 年半、トロント大学の新生児科の臨床フェローとしてカナダの新生児医療を体験しました。そこで、日本とカナダの早産児の管理法や予後に違いがあることを感じ、両国の新生児データベースを用いて極低出生体重児の予後比較研究を行いました。日本はカナダと比較して、死亡、脳室内出血、壊死性腸炎が少ないが、未熟児網膜症、慢性肺疾患は多いことがわかりました。現在、この研究が発展し、世界 11 か国を巻き込む国際新生児ネットワーク(iNEO: The International Network for Evaluation of Outcomes of neonates)という国際共同プロジェクトが開始され、私もそのメンバーの一人として参加しています。この iNEO でも、国家間で早産児の死亡率や各合併症の発症率に大きな差があることが明らかとなり、日本は世界的にみても、死亡率、脳室内出血、壊死性腸炎が少なく、未熟児網膜症が極めて多いことがわかりました。更に、これらの予後の違いの原因を探るために、iNEO 参加 11 か国の計 390 施設に、早産児管理方法(呼吸、循環、医療倫理、など)に関する質問紙調査を行い、国や施設により、様々な管理方法の違いがあることもわかってきました。これらの結果をもとに、現在、iNEO 参加各国で、早産児の医療の質向上のための、様々な議論や管理法の見直しが行われてきています。今回の講演では、これらの結果を紹介し、それを踏まえて、世界における日本の新生児医療の現状と今後の課題に関して考察する予定です。

また、私は、トロントにいる間に、臨床フェローをやりながら、世界的に Evidence-based medicine のメッカの一つである McMaster 大学の臨床疫学統計学部の修士課程で臨床疫学を学び、博士課程に進んで PhD を取得することができました。同時に、Canadian Neonatal Network や iNEO 本部のある MiCare Research Center という研究所で疫学研究も行っていました。これらの経験を元に、海外で臨床をやるということ、海外で大学院や研究をやるということに関しても、皆様に紹介したいと思います。

[略歴]

- 1988-91 熊本県立熊本高等学校 卒業
- 1991-95 京都大学 理学部 物理学科
- 1995-97 京都大学大学院 理学研究科 修士課程
- 1997-2003 京都府立医科大学 医学部
- 2004-05 京都府立医科大学 小児科 研修医
- 2004 久美浜市立 久美浜病院 小児科 医員

2004-07 国立舞鶴医療センター 小児科 医員
2007-08 京都府立医科大学 小児科 後期研修医
2008-10 大阪府立母子保健総合医療センター 新生児科 医員
2011-12 トロント大学 小児科新生児部門 臨床フェロープログラム
2013-17 Sunnybrook Health Sciences Centre NICU 臨床フェロー(カナダ、トロント)
2013-17 McMaster 大学臨床疫学統計学部 PhD(カナダ、ハミルトン)
2013-17 MiCare Research Centre 研究フェロー(カナダ、トロント)
2017-現在 国立成育医療研究センター 新生児科 診療部長

[参考文献(関連するのもののみ)]

- 1) Beltempo M, **Isayama T** (co-primary author), Vento M, Lui K, Kusuda S, Lehtonen L, Sjörs G, Håkansson S, Adams M, Noguchi A, Reichman B, Darlow BA, Morisaki N, Bassler D, Pratesi S, Lee SK, Lodha A, Modi N, Helenius K, Shah PS; on behalf of the International Network for Evaluating Outcomes of Neonates. Respiratory Management of Extremely Preterm Infants: An International Survey. *Neonatology*. 2018;114(1):28-36. doi: 10.1159/000487987. Epub 2018 Apr 13. PMID: 29656287
- 2) Helenius K, Sjörs G, Shah PS, Modi N, Reichman B, Morisaki N, Kusuda S, Lui K, Darlow B, Bassler D, Hakansson S, Adams M, Vento M, Rusconi F, **Isayama T**, Lee S, Lehtonen L. Survival in Very Preterm Infants: An International Comparison of 10 National Neonatal Networks. *Pediatrics*. 2017 Dec;140(6). pii: e20171264. doi: 10.1542/peds.2017-1264. Epub 2017 Nov 21. PMID: 29162660
- 3) **Isayama T**, Lewis-Mikhael AM, O'Reilly D, Beyene J, McDonald SD. Health Services Use by Late Preterm and Term Infants From Infancy to Adulthood: A Meta-analysis. *Pediatrics*. 2017 Jul;140(1). pii: e20170266. doi: 10.1542/peds.2017-0266. Review. PMID: 28759410
- 4) **Isayama T**, Lee SK, Yang J, Lee D, Daspal S, Dunn M, Shah PS. Revisiting the definition of bronchopulmonary dysplasia: impact of changing panoply of respiratory support for preterm neonates. *JAMA Pediatrics* 2017;171(3):271-279
- 5) **Isayama T**, Iwami H, McDonald S, Beyene J. Association of Noninvasive Ventilation Strategies With Mortality and Bronchopulmonary Dysplasia Among Preterm Infants: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*. 2016 Aug 9;316(6):611-24. doi: 10.1001/jama.2016.10708. PMID: 27532916
- 6) **Isayama T**, Chai-Adisaksopha C, McDonald S. Noninvasive Ventilation With vs Without Early Surfactant to Prevent Chronic Lung Disease in Preterm Infants: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatrics* 2015 Aug 1;169(8):731-9. PMID: 26053455

- 7) **Isayama T**, Mirea L, Lee SK, Mori R, Kusuda S, Fujimura M, Shah PS. Patent Ductus Arteriosus Management and Outcomes in Japan and Canada: Comparison of Proactive and Selective Approaches. *Am J Perinatol*. 2015 Sep;32(11):1087-94. Epub 2015 Mar 31. PMID: 25825965
- 8) **Isayama T**, Ye XY, Tokumasu H, Chiba H, Mitsuhashi H, Shahrook S, Kusuda S, Fujimura M, Toyoshima K, Mori R, and the Neonatal Research Networks of Japan. The effect of professional-led guideline workshops on clinical practice for the management of patent ductus arteriosus in preterm neonates in Japan: A controlled before-and-after study. *Implementation Science* 2015 May 8;10(1):67. PMID: 25952042
- 9) **Isayama T**, Shah PS, Ye XY, Dunn M, DaSilva O, Alvaro R, Lee SK. Adverse Impact of Maternal Cigarette Smoking on Preterm Infants: A Population-Based Cohort Study. *Am J Perinatol*. 2015 Oct;32(12):1105-11. Epub 2015 Mar 31. PMID: 25825966
- 10) **Isayama T**, Lee SK, Ye XY, Mori R, Kusuda S, Fujimura M, Shah PS. Comparison of mortality and morbidity of very low birth weight infants between Canada and Japan. *Pediatrics*. 2012 Oct;130 (4): e957-e965. PMID: 22966031

(3)新生児期に備わる脳障害後のニューロン移動・再生メカニズム

[講師] 神農 英雄（名古屋市立大学大学院医学研究科 新生児・小児医学分野/
豊橋市民病院 小児科 副部長）

[要旨]

周産期医療が進歩した現在でも新生児脳障害は一定の割合で発生している。傷害で失った神経組織を再生させる治療法は未だ無く、新たな治療法の開発が望まれている。

近年、幹細胞を用いた再生戦略が注目されている。生後の脳にも側脳室外側壁の脳室下帯には神経幹細胞が存在してニューロン(神経細胞)が産生されている。一方、脳障害後では産生されたニューロンの一部が血管などを足場にして傷害部へ移動する。新生児期は脳室下帯でのニューロン産生能、傷害部へのニューロン移動能が高いことから、脳室下帯の神経幹細胞は脳障害後のニューロン再生のソースとして期待できる²。しかし、新生児期に傷害部へ多数のニューロンが移動するメカニズムは不明であった。

我々は、ニューロン移動を支える新生児期特有の足場が存在すると考え、発生期にニューロン移動の足場となる放射状グリアに着目した。マウスを用いた研究から、通常生後すぐに消失する放射状グリアが新生児期の脳障害後では一時的に維持され、脳室下帯由来のニューロンが放射状グリアを足場にして傷害部へ移動することを見出した。さらに、放射状グリアが移動ニューロンと接着分子 N-cadherin を介して接着構造を形成することによって、傷害部への効率のよいニューロン移動をもたらすことを明らかにした。また、ニューロンが N-cadherin を発現した足場の上を移動するときに、低分子量 G タンパク質 RhoA が活性化されることによってニューロン移動が促進されることを突きとめた。

傷害後の組織再生を促進させる戦略として、生体材料を用いた方法が研究・実用化されている⁴。我々は以前にニューロン移動の足場となる血管を人工的に作製して脳傷害部へ供給することで、ニューロン移動の誘導に成功している³。この手法から着想を得て、放射状グリアを模倣した人工足場(N-cadherin スポンジ)を作製して傷害脳へ移植したところ、新生児期のみならず成体期のマウスにおいても傷害部へのニューロン移動の促進に成功した。さらに新生児期のマウスでは、N-cadherin スポンジ移植が脳室下帯由来ニューロンの傷害部での成熟を促進させることによって歩行機能を回復させることを、複数の運動機能テストから証明した。

今回の研究成果は、新生児期のみにも備わる脳障害後の神経再生メカニズムを世界で初めて明らかにしたことである¹。新生児脳障害の再生医療の実現化のために、今後はヒト新生児ならびに同等の脳構造を持つブタ新生仔による検討を行う予定である。

[略歴]

学歴:

2002年 岐阜大学医学部卒業

2016年 名古屋市立大学大学院医学研究科博士課程修了

職歴:

2002年4月 名古屋第二赤十字病院

2006年4月 聖隷三方原病院

2007年5月 聖隷浜松病院(総合周産期母子医療センター新生児部門)

2012年4月 名古屋市立大学大学院医学研究科

2016年10月 JA 愛知厚生連海南病院

2018年4月 豊橋市民病院

(*2016年10月より、名古屋市立大学大学院医学研究科研究員兼務)

[受賞]

平成30年度岐阜医学奨励賞

平成30年度日本医師会医学研究奨励賞

平成29年度日本新生児成育医学会学術奨励賞

[文献]

1. Jinnou H, et al. Radial glial fibers promote neuronal migration and functional recovery after neonatal brain injury. *Cell Stem Cell* 22(1): 128-137, 2018.
2. Hayashi Y*, Jinnou H* [*Co-first authors], et al. Adult neurogenesis and its role in brain injury and psychiatric diseases. *J Neurochem.* 2018. doi: 10.1111/jnc.14557.
3. Ajioka I*, Jinnou H* [*Co-first authors], et al. Enhancement of neuroblast migration into the injured cerebral cortex using laminin-containing porous sponge. *Tissue Eng Part A.* 21(1-2): 193-201, 2015.
4. Nakaguchi K*, Jinnou H* [*Co-first authors], et al. Growth factors released from gelatin hydrogel microspheres increase new neurons in the adult mouse brain. *Stem Cells Int.* 2012: 915160, 2012.

(4)先天性横隔膜ヘルニアの治療と予後

[講師] 伊藤 美春（名古屋大学大学院医学系研究科 小児科学/成長発達医学
特任助教）

[要旨]

先天性横隔膜ヘルニア(congenital diaphragmatic hernia:CDH)は、胎生早期の横隔膜の形成不全により生じた欠損部位から、腹腔内臓器が胸腔内に脱出する疾患である。脱出臓器による肺低形成と、それに起因する呼吸障害、肺高血圧を主たる病態とする。1980年代では死亡率が40~60%と予後不良な疾患であったが、出生前診断の普及や出生後の管理の進歩により、生存率の向上がみられ、現在では死亡率は20%前後まで低下している。しかし、まだ救命できない最重症例が存在することや、救命率の増加による中長期の後遺症・合併症の増加など、課題は残存する。

CDHの急性期管理として重要となる呼吸・循環管理も変化しつつあるが、いまだ議論されており、また手術に関しても最適な時期や方法など、現在も検討を重ねている。

中長期的な後遺症や遅発性合併症も、反復する呼吸器感染、気管支喘息、肺機能障害、肺高血圧症、胃食道逆流症、ヘルニア再発、腸閉塞、栄養障害に伴う成長障害、精神運動発達遅延、聴力障害、漏斗胸、側弯など多岐にわたる。

生存率上昇という短期予後のみでなく、中長期的な予後も含めた改善を目指し、周産期から継続したよりよい管理・フォロー体制を構築していくことが重要であるところから、今回、CDHについて、治療や予後を中心に概説する。

[略歴]

2003年3月	名古屋大学医学部 卒業
2003年5月	愛知県厚生連安城更生病院 研修医
2005年4月	愛知県厚生連安城更生病院 小児科 医員
2007年4月	名古屋大学医学部附属病院 小児科 医員
2007年10月	愛知県心身障害者コロニー中央病院 新生児科 医員
2010年7月	名古屋大学医学部附属病院 小児科 医員
2010年10月	名古屋大学医学部 小児科 特任助教 現在に至る

(5)当院における高感度 PCR 法を利用した周産期医療

[講師] 吉田 丈俊 (富山大学附属病院周産母子センター 新生児部門 特命教授)

[要旨]

当院では切迫早産の母体に対して羊水検査を行い、病原微生物の同定(感染)と IL-8 の測定(炎症)を行っている。また、2012 年からは高感度 PCR 検査によって、羊水穿刺後 3 時間で起炎菌を同定できるシステムが構築されており、入院後すぐに母体の起炎菌に応じた抗菌薬投与が可能である。原則的に、子宮内に高度な炎症を認めた際(IL-8 高値)は tocolysis を最低限として、陣痛時は無理せず分娩の方針を取っている。このように子宮内の炎症の強さと起炎菌に応じた抗菌薬投与を行った結果、切迫早産で未破水の症例は羊水穿刺後平均 7 週間妊娠を継続可能となっている。また、妊娠継続による新生児感染症や PVL の発生が危惧されていたが、それらの発生率は非常に低い結果であった。このような子宮内環境に応じた母体への治療によって生まれた児についての検討を中心に、当院における周産期医療について発表したい。

[参考文献]

- 1) Eukaryote-Made Thermostable DNA Polymerase Enables Rapid PCR-Based Detection of Mycoplasma, Ureaplasma and Other Bacteria in the Amniotic Fluid of Preterm Labor Cases. PLoS One. 2015 4;10(6):e0129032.
- 2) Polymicrobial Amniotic Fluid Infection with Mycoplasma/Ureaplasma and Other Bacteria Induces Severe Intra-Amniotic Inflammation Associated with Poor Perinatal Prognosis in Preterm Labor. Am J Reprod Immunol.2016;75:112-25.

[略歴]

1994 年 富山医科薬科大学卒業(現富山大学)
1994 年 富山医科薬科大学附属病院小児科(研修医)
1996 年 大阪府立母子保健総合医療センター新生児科実地修練生
2000 年 京都大学ウイルス研究所情報高分子化学教室研究生
2004 年 ドイツリウマチ病研究センター ポストドク
2007 年 富山大学附属病院周産母子センター 助教
2017 年 富山大学附属病院周産母子センター 特命教授
現在に至る

[所属学会]

日本小児科学会、日本周産期新生児医学会、日本新生児成育医学会、
日本人類遺伝学会、日本 DOHaD 研究会

[専門医等]

小児科専門医、新生児専門医、臨床遺伝専門医