図1. 新生ラットの体重増加に対するグレリンの効果と投与時刻依存性

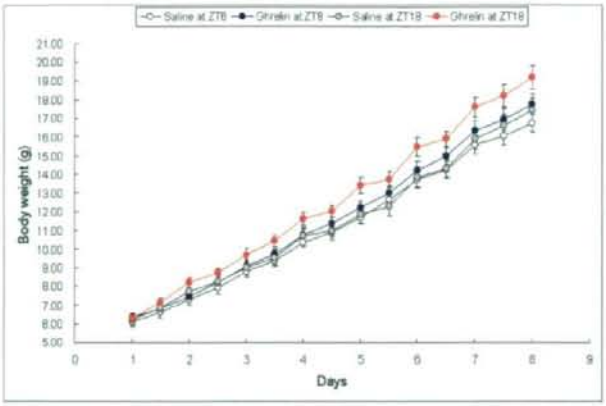


図2. 出生1日目における新生ラットの体重に対するグレリンの効果

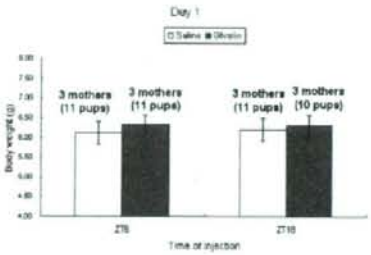


図3. 出生4日目における新生ラットの体重に対するグレリンの効果

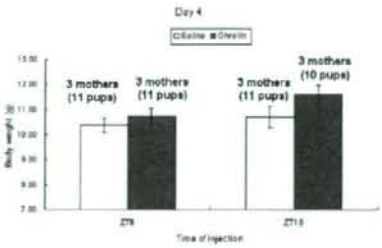


図4. 出生7日目における新生ラットの体重に対するグレリンの効果

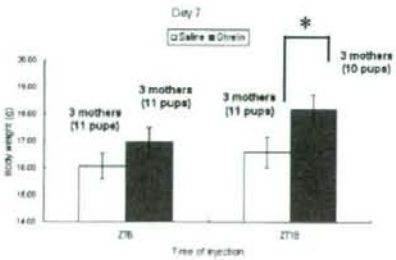
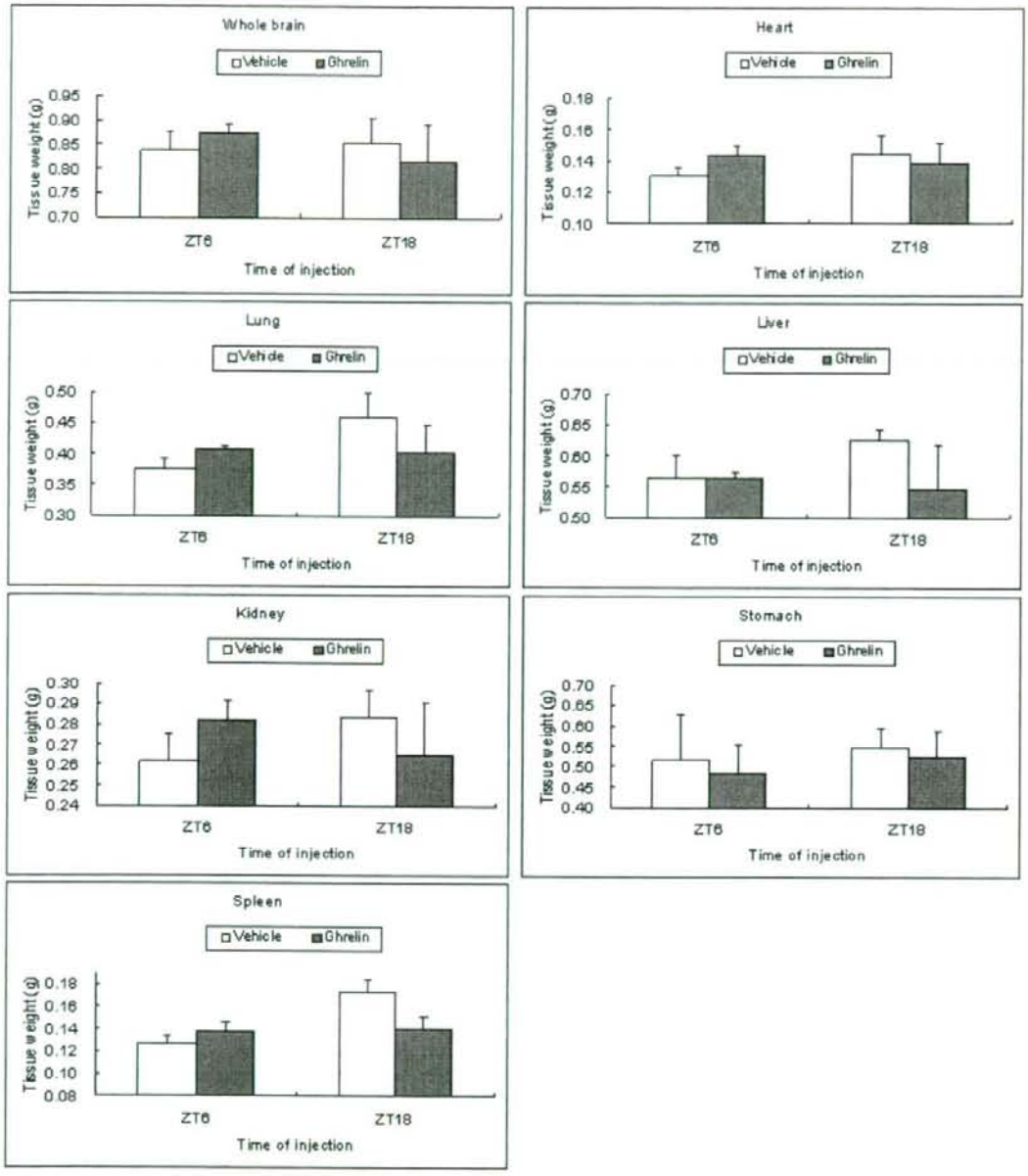


図5. 新生ラットの組織重量に対するグレリンの効果と投与時刻依存性



厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

児の発達指標としての発達検査について

分担研究者　仲井邦彦　（東北大学医学系研究科　准教授）

研究要旨

次世代人工保育器の効果を検証するため、出生児の成長と発達を追跡する検査バッテリーの確立が求められる。身体的発達に加え、神経行動学的な発達を測定する方法として、Bayley Scales for Infant Development, 2nd edition（以下BSID）の応用を準備した。BSIDは海外では標準的な発達検査であり、様々な分野で発達に影響する要因を明らかにする上で有用な方法として認められている。わが国では標準化されていないものの、英語圏以外の国では標準化を経ずに用いられた例も少なくない。さらに、本研究に参加する分担研究施設においてBSIDを用いた研究事例があり成果も報告されている。一方、わが国には発達検査として新版K式発達検査がある。海外での知名度は乏しく、国際比較は困難であるものの、国内では標準的な検査法である。そこで、本研究ではBSIDを利用するに際し、BSIDと新版K式発達検査との比較をあらためて実施し、BSIDの特徴を明らかにすることとした。具体的には、分担研究施設で過去に実施したBSIDと新版K式発達検査の結果を、生後7ヶ月および18ヶ月で比較した。BSIDは心理発達尺度MDIと心理運動発達尺度PDIから構成される。このうちMDIは、新版K式発達検査の心理発達尺度と考えられるC-A（認知・適応）と高い相関が認められ（年齢と性を調整した偏相関係数は、生後7ヶ月で0.582、生後18ヶ月で0.501、n=456）、またPDIは新版K式発達検査の心理運動発達尺度と考えられるP-M（姿勢・運動）と高い相関が認められた（生後7ヶ月で0.728、生後18ヶ月で0.494、n=458）。このことから、両検査はほぼ同じものを測定していると期待されるものの、両検査には若干の差異があることも示唆された。さらに、新版K式発達検査に特徴的な指標であるL-Sについては、BSIDに該当する指標が必ずしもないことが示唆された。BSIDを応用する上でこのような特徴を考慮しつつ適用することが必要と判断された。

A. 研究目的

次世代人工保育器の効果を検証する層別ランダム化比較研究において、介入群および対照群の出生児の成長と発達を追跡する検査バッテリーが必要となる。身体的発達に加え、神経行動学的な発達を測定する方法が必要であり、発達検査として、海外ではBayley Scales for Infant Development, 2nd edition（以下BSID）が多くの臨床および疫学研究で標準的な方法として用いられている。BSIDは英語圏ではない国でも標準化作業を経ずに用いられ、十分な検出力を有することも示されている。一方、わが国には発達検査として新版K式発達検査が標準的な方法として確立されている。残念ながら、疫学的な研究での応用例は少なく、また英文雑誌での発表はほとんど見られず国際的な知名度はない。このため研究結果の国際比較を行う上でも支障となると懸念される。このため本研究ではBSIDを発達検査法として採用した。このため、出生後のフォローアップに先立ち、BSIDと新版K式発達検査について比較し、BSIDの特徴を明らかにする必要があると考え、両検査の比較を実施した。さらに、BSIDの適用を行う上で検討すべき事項についても予備的に検討したので報告する。

B. 研究方法

BSIDはThe Psychological Corporationより購入し、翻訳して使用した。翻訳後の使用に際して、検査の妥当性、信頼性などを担保するため、米国Rochester大学Davidson教授の協力を得て、a）和訳プロトコールを逆翻訳し検査手技の正確性の検証、b）米国より検査トレーナーを招聘し実技、採点法の妥当性の確認、c）検査結果をDVD録画しDavidson博士による採点を依頼。検査結果の一致性の確認などを行った。新版K式発達検査については、京都国際社会福祉センターから購入し、その訓練プログラムを受講して実際に使用した。

両検査の比較には、分担者研究施設にて過去に実施した発達検査の結果を用いた。仙台市内で行った出生コホート調査であり、出生児が生後7および18ヶ月の時点でBSIDと新版K式発達検査を実施した。その研究の概要についてはすでに厚生労働科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）平成13年度分担報告書などに記載した。

統計解析は、児の性、検査月齢を調整した偏

相関係数を求め、両検査の関連性を生後7ヶ月および18ヶ月で比較した。

（倫理面への配慮）

本研究計画については、東北大学医学系研究科倫理委員会に提出し、承認を得て実施した。また、今回の解析で用いた分担研究施設で得た研究結果についても、同様に倫理委員会の承認を得て実施したものである。

C. 研究結果

BSIDは心理発達尺度（Mental Development Index、MDI）と心理運動発達尺度（Psychomotor Development Index、PDI）から構成される。新版K式発達検査は、C-A（認知・適応）、L-S（言語・社会）、P-M（姿勢・運動）の各領域に加え、全領域の総合的な発達指数（DQ）が算出される。このうちMDIおよびPDIは、新版K式発達検査のC-A（認知・適応）およびP-M（姿勢・運動）にそれぞれ相当すると考えられる。

生後7ヶ月で両指標を比較すると、MDIはC-Aと高い関連性が得られたものの、PDIとは統計学的に有意ではあるものの関連性は低かった。一方、PDIはC-Aとやや高い関連性があるものの、P-Mとより強い関連性であった。MDIおよびPDIともに全領域DQとも高い関連性が認められた。一方で、生後7ヶ月ではMDIおよびPDIともにL-Sとの関連性は低かった。次に生後18ヶ月では、MDIはC-A、L-S、及び全領域と高い関連性が示され、PDIはP-Mとやや強い関連性があり、全領域とも弱い関連性が認められた。

D. 考察

BSIDは1969年に米国で初版が出版された検査法であり、1993年に第2版が公開された（BSID-II とも略されるが、本稿ではBSID とする）。BSIDは生後1カ月から3歳頃までを対象とした総合的な発達診断法で、直接検査法である。心理尺度、心理運動尺度 、および乳幼児行動記録（Behavioral Rating Scale; BRS）から構成されており、Binet法やWechsler法などと同じく評定のための検査項目が、月・年齢の段階に順に配列されている。実施項目は修正月齢に対して標準化されており、該当する月齢で成績が悪いか良い場合に1つ下か上の月齢に進む形で検査が進行する（ルール：心理尺度では修正月齢に相当する検査項目で5つ以上の合格がない場合は1カ月下の試験を再実施し、逆に3つ以下の不合格の場合は1カ月上の試験を追加実施する。心理運動尺度では、この基準がそれぞれ4と2になる。新版K式発達検査ではこのようなルールは採用されていない）。心理尺度および心理運動尺度は、ともに評定された粗点をもとに対象児の月齢に対応した換算表を用いて、それぞれMDI、PDIが計算される。MDIとPDIはそれぞれ平均100とし、標準偏差を16とする標準得点で示される。しかし、BSIDは米国で標準化されている発達検査であり、社会的文化的背景が異なる日本では、その標準化データの使用に際しては慎重であるべきであろう。

今回、BSIDと新版K式発達検査の比較をサンプル数450程度で行ったが、両検査の指標はTable 1に示すように、心理指標、運動指標それぞれで有意な偏相関係数が認められ、比較的高い関連性があることが確かめられた。このことは、いずれの検査も子どもの発達でかなり近いものを測定していると判断された。ただし、偏相関係数は必ずしも高いものではなく、両検査の間に差異があることも確かめられた。BSIDが海外の臨床研究でよく用いられ、十分な検出力があることが確認されていることを考えるなら、本研究でもBSIDの作用が妥当と結論された。

BSIDを日本で用いることの課題としては、国内で標準化されていないこと、言語を用いた検

Table 1. BSID-IIの2つの指標と新版K式発達検査指数との偏相関係数

BSID	新版K式発達検査 C-A（認知・適応）	L-S（言語・社会）	P-M（姿勢・運動）	All
生後7ヶ月（n=456）				
心理発達指標（MDI）	0.582**	0.278**	0.254**	0.544**
心理運動発達指標（PDI）	0.498**	0.121**	0.728**	0.667**
生後18ヶ月（n=458）				
心理発達指標（MDI）	0.501**	0.569**	0.193**	0.617**
心理運動発達指標（PDI）	0.171**	0.138*	0.494**	0.3427**

性別、検査実施月齢により調整した．* p<0.05．** p<0.01．

査が行われる年齢では原語の翻訳の妥当性が問題となること、検査手技や判定方法の正確性の担保が求められること、などが考えられる。まず標準化については、米国以外でBSIDが使用された研究事例について文献的な検索を行ったが、例えば2001年にLancet誌に出されたWinnekeらの疫学研究（Lancet 358: 1602-07, 2001）では、BSIDの標準化は経ず、平均100標準偏差16とする標準得点での解析が行われている。その他、韓国、セイシェル共和国などでも実施例があり、有用性が示されている。次に、言語を用いた検査項目では、研究方法でも述べたように逆翻訳などを行って適切化を検討済みである。検査手技、判定方法の精度についても、米国でBSIDの使用例が多いRochester大学の研究者の協力を得て、信頼性の確認を行った。

最後に、一般論となるが、本研究でBSIDを採用する際に、事前検討が必要と考えられる点を補足する。複数名のテスターで検査を行う場合、テスター間のバイアスを最小とするよう、テスターの検査手技や採点基準の調整が必要であろう。さらに、本研究は多施設RCTであり、施設間の調整も重要と考えられる。調査期間が長期間にわたる場合、同一テスター内でも検査手技や採点基準が変動しないような工夫が期待される。このような精度管理を行う上で、検査をDVDなどに録画し、テスター間、施設間で相互に採点し関連性を比較するなどの作業が有用と考えられる。

E. 結論

乳幼児の発達検査法として、BSIDと新版K式発達検査の比較を行った。両検査の心理尺度および心理運動尺度でそれぞれに統計学的に有意な関連性が認められ、両検査は子どもの発達について同じ側面を測定していることが確かめられたものの、必ずしも十分に高いものではないことも確認された。BSIDは海外でよく用いられている発達検査であり、様々な研究で有用性が示されている。このため本研究でもBSIDの採用が適切と考えられた。一方、国内には新版K式発達検査が標準的な発達検査法として確立されている。研究目的として応用する際にはBSIDが適切であるものの、臨床上で新版K式発達検査の指標と比較する際には、両者に若干の差異があることを念頭にすべきであろう。また、BSIDを用いる際に、テスター間、施設間の差異を最小限にとどめる努力も必要であろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

（国内学会）

なし

（国際学会）

なし

G. 知的財産権の出願・登録（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

光フィルター保育器で哺育された早産児の入院期間中の行動・自律神経活動の日内変動について

分担研究者　齋藤潤子　（宮城県立こども病院　　新生児科・部長）
分担研究者　渡辺達也　（宮城県立こども病院　　新生児科・医長）

研究要旨

次世代人工保育器（光フィルター保育器）の効果を検証するため、出生体重1,000g以上1,500g未満の早産児を対象として、①保育器内の早産児の生理的指標に与える影響を評価する短期的評価と②退院後の成長発達を追跡して評価する長期的評価、の２つの評価方法を設定した。現在、退院後の成長発達をフォローする児が対象月齢に到達していないため、今回の報告では入院中の早産児の生理指標に光フィルター保育器が与える影響を検討した。入院期間中の評価指標として、①児の行動量の日内変動、②心拍変動解析による自律神経活動、③唾液中の成長因子・糖質コルチコイドを選択した。その結果、妊娠34週相当以前の早産児では、光フィルター保育器の使用・不使用に関らず、児の行動量・自律神経活動・成長因子・糖質コルチコイドに明らかな日内変動を認めなかった。妊娠35週相当以降の早産児の一部では、児の行動量・自律神経活動・成長因子・糖質コルチコイドに日内変動が存在する児を確認した。妊娠38週相当の早産児では、光フィルター保育器にて哺育された早産児の多くは、光フィルター保育器を使用しない早産児に比較し、行動量・成長因子・糖質コルチコイドに日内変動を認めた。この結果は光フィルター保育器がNICU入院中の早産児の生理指標に子宮内環境と類似した日内変動を誘導することを明らかにし、光フィルター保育器の有効性を示唆するものである。

A. 研究目的

出生率の低下にも係らず我が国の早産児出生は増加傾向にあり、毎年10万人(年間総出生数の約10%)が保育器ケアを受ける。その原因として妊婦の過剰なダイエット・喫煙、そして高齢化に伴う妊娠合併症の増加が指摘され、今後も早産の増加が予想される。出生体重1000g未満の早産児の新生児集中治療室（NICU）への入院期間は平均90日に渡り、従来の救命医療に加え、発達障害を予防する人工保育環境の科学的な設計・開発が現在の重要な課題である。

光環境は身体精神発達に影響する。早産児は妊娠28週から光を認知し（Hao et al. PNAS 1999）常に明るい光環境が児の身体発育を妨げ、明暗サイクルのある光環境が発育を促すことが知られている(Mann et al. BMJ 1986; Brandon et al. J Pediatr 2002）。またNICUの不規則な光環境が精神・神経発達に影響することが指摘されている（Mirmiran & Ariagno, Semin Perinatol 2000; Ohta et al., Nautre Neurosci 2005；Ohta et al., Pediatr Res 2006）。このメカニズム解明のため我々は早産児の視覚特性を調べ、児の眼球においてはロドプシン・コーンオプシンといった従来の光受容体は十分に機能せず、近年発見された光受容体「メラノプシン」が光情報を処理することを世界に先駆け確認した（Hanita et al., J Pediatr 2009）。更に興味深いことにメラノプシンは脳内生物時計に光情報を伝達し、生物時計を介して成長因子（IGF-I・グレリン）・副腎糖質コルチコイドの分泌、自律神経バランスを制御する。

本研究班は早産児メラノプシンが480nmを中心とした青色光を手がかりに昼間を認識することを確認し、この光特性をもつフィルター（特開2007-89829）を作成した。この光フィルターを用い、1)平成20年度にアトムメディカル（株）と光フィルター保育器を開発し人工昼夜の作成に成功した。同時に、2) 人工昼夜により児の生物時計を医工学的に駆動させた際の入院中の成長因子・糖質コルチコイドの分泌、身体発達の評価を開始し、平成21年度は2)の入院中の評価継続に加え、3) 退院後の発達支援外来における身体精神発達の短期フォロー評価を本格化させ、光フィルター保育器の発達促進効果を評価する。

B. 研究方法

早産児が光情報を取り込む光受容体「メラノプシン」は波長480nmを中心とする青色光に反応する性質をもつ。本研究の準備段階（平成19年）では、早産児網膜のメラノプシンに作用する波

長580nm以下の人工光をカットする光フィルター(特開2007-89829)を開発した。平成20年度は、この特殊光フィルターを保育器に夜間装着することにより、人工照明が児に直接到達し生物時計を乱すことを防ぎ、人工昼夜を形成させる光フィルター保育器の開発に成功した。同時に光フィルター保育器が児の発達に与える影響を身体発達（身長・体重・頭囲）・児の行動・自律神経活動、および成長因子・糖質コルチコイドの計測にて評価を開始した。平成21年度は、20年度と同様に、①入院中の発達評価、②退院時の発達評価を行うのに加え、③退院後の児の発達支援を外来フォローし、生後11ヶ月間の身体・精神発達を評価し、光フィルター保育器の有用性を評価する。

研究1. 光フィルター保育器内の児の生理反応の評価

光フィルター保育器および保育器外では光フィルター新生児用ベッドにて、退院まで人工昼夜を保育環境に導入し、児の身体発達・生理反応を以下の方法で評価する。

＜対象・プロトコール＞

出生体重1000g以上1500g未満（妊娠27週～30週相当）の早産児合計50名を2群に分け治療を開始する。

[グループ1]光フィルターがなく恒明環境に近い光環境で保育される児：25名

[グループ2]光フィルターにより明暗サイクルのある環境で保育される児：25名

光環境の早産児に与える影響を検討した先行研究（Mann et al. BMJ 1986; Miller et al. Infant Behav Dev 1995; Brandon et al. J Pediatr 2002）より統計検定に必要な対象児は各群20名であり、脱落率を25％とすると対象児数は各群25名となる。

＜データ採取・解析＞

主要評価項目を①身体発達予後の改善とし具体的には身長・体重・頭囲の発達を測定し入院中の光フィルター保育器の影響を評価する。また、入院期間中の副次評価項目を②退院時（妊娠40週前後）の行動リズムの形成、③自律神経活動の成熟、④成長因子（唾液IGF-I・尿グレリン）・糖質コルチコイド（唾液コルチゾル）の分泌促進とし、4週間毎に評価する。具体的には、児の日内生理変動を評価するため、24時間の活動パターンを腕時計型体動計で評価する（仲井）。また、自律神経活動の成熟を評価するために、モニター記録の心拍変動にてRR解析を行う(太田)。加えて、児の唾液・尿を6時間毎に24時間サンプリングを行い、成長因子・糖質コルチコイドを評価する。

研究2. 退院後の児の身体精神発達評価

＜対象・プロトコール＞

光フィルターの装着・非装着で2群に分けられた退院後の早産児合計50名

＜データ採取・解析＞

光フィルター保育器使用群・非使用群の2グループについて、主要評価項目①身体発達予後の継続評価、および副次評価項目である②睡眠発達の促進、③神経学的発達、④ベイリー式発達検査、の評価を行う。具体的には、退院後は発達支援外来にて体重・身長・頭囲測定、診察・ご両親の観察から得られた発達内容の記録から、児の発達を生後1・4・7・11ヶ月で評価し、客観的なプロファイルを作成する。

（倫理面への配慮）

本研究は、宮城県立こども病院の倫理委員会審査にて既に承認され、研究は各倫理委員会の規定を遵守し、倫理面・安全性に留意して行う。対象となる児の両親に対する研究内容の説明およびその実施に当たっては可能な限りプライバシーの確保に努力する。また、個人情報の取り扱いについては、患者のプライバシー保護のため、個人が特定される情報はデータ採取の際、登録しない。患者名など、第三者が担当医療関係者や当該施設の職員を介さずに直接患者を識別できる情報がデータ・ベースとして登録されることがないよう慎重に取り扱う。

C. 研究結果

平成20年度は、光フィルター保育器使用群1例、非使用群2例が本研究にエントリーした。主要評価項目である①身体発達予後の改善については、早産児が修正3ヶ月齢となる症例数が揃う平成21年度に評価するため、解析を行わなかった。そのため本年度は副次評価項目である②退院時（妊娠40週前後）の行動リズムの形成、③自律神経活動の成熟、④成長因子（唾液IGF-I・尿グレリン）・糖質コルチコイド（唾液コルチゾル）の分泌促進、について評価した。以下、②退院時（妊娠40週前後）の行動リズムの形成、③自律神経活動の成熟、について解析結果をまとめる（④成長因子・糖質コルチコイドの解析は、II.分担研究報告 4.「新生児唾液試料のホルモン濃度測定による発達評価」を参照）

統計解析の対象となる症例数が平成20年度は十分でないため、全参加医療機関の症例をまとめたデータセットを用いて解析を行った。

C-1.早産児行動リズムに対する光フィルター保育器の影響

1) 妊娠35週相当の早産児

行動量の日内変動（行動リズム）において、光フィルター保育器使用群・非使用群の間に有意差を認めなった（II.分担研究報告 1.「光フィルター保育器で哺育された早産児の入院期間中の行動・自律神経活動の日内変動について」図4参照）。

2) 妊娠38週相当の早産児

行動量の日内変動（行動リズム）において、光フィルター保育器使用群・非使用群の間に有意差を認めなった（II.分担研究報告 1.「光フィルター保育器で哺育された早産児の入院期間中の行動・自律神経活動の日内変動について」図4参照）。しかし、光フィルター保育器使用群全例（4例）において、昼の時間帯における行動量が夜間に比較し増加していた。

C-2. 早産児自立神経活動に対する光フィルター保育器の影響

1)妊娠35週相当の早産児

交感神経指標LF/HFの日内変動において、光フィルター保育器使用群・非使用群の間に有意差を認めなった（II.分担研究報告 1.「光フィルター保育器で哺育された早産児の入院期間中の行動・自律神経活動の日内変動について」図5参照)。

2) 妊娠38週相当の早産児

交感神経指標LF/HFの日内変動において、光フィルター保育器使用群・非使用群の間に有意差を認めなった(II.分担研究報告 1.「光フィルター保育器で哺育された早産児の入院期間中の行動・自律神経活動の日内変動について」図5参照)。

D. 考察

従来の研究では、行動量に日内変動を認めるのは43週以降であることが報告されている（Reviki ees et al., Pediatrics 2004）。本研究では、有意差を認めなかったものの、光フィルター保育器を使用した妊娠38週相当早産児の全例に行動量に日内変動を認めたことは、従来の報告より5週早く、行動リズムが形成されていることを意味する。一方、自律神経活動については、妊娠35週・38週の両方の発達段階で有意な日内変動を認めず、光フィルター保育器の明らか効果を認めなかった。この理由として、①早産児の心拍変動を制御する自律神経の未成熟性、②メラノプシン光受容体を介した心拍変動制御システムの未熟性（Thompson et al., Eur J Neurosci. 2008)、が考えられ今後の検討課題である。

E. 結論

光フィルター保育器が早産児の行動リズムを促進することが示唆された。今後、症例数を十分に増やし、統計学検討を再度行う。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Ohta H, Xu S, Moriya T, Iigo M, Watanabe T, Nakahata N, Chisaka H, Hanita T, Matsuda T, Ohura T, Kimura Y, Yaegashi N, Tsuchiya S, Tei H, Okamura K. Maternal feeding controls fetal biological clock. PLoS ONE. 2008;3: e2601.

2) 松田　直、斉藤昌利、渡辺達也、埴田卓志、三浦雄一郎、北西龍太、秋山志津子、渡辺真平、岡村州博. 子宮内炎症と神経細胞死. 日本周産期・新生児医学会雑誌, 2008:44;863-867.

3) 渡辺達也、松田　直. 脳室周囲白質軟化症. 小児科診療, 2009;3:559-565.

2. 学会発表

（国内学会）

なし

（国際学会）

なし

G. 知的財産権の出願・登録（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図. 病棟における光フィルターの保育器(左写真)および新生児ベッド用光フィルターの使用風景(右写真)

Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書　籍　名	出版社名	出版地	出版年	ページ
太田英伸	早産児・新生児の視覚環境	山口真美・金沢　創	知覚・認知の発達心理学入門－実験で探る乳児の認識世界	北大路書房	京都	2008	121-132
飯郷雅之	第3部　生物リズムの研究法 37. 光パルス	石田直理雄，本間研一	時間生物学事典	朝倉書店	東京	2008	104-105
飯郷雅之	第4部　生物時計 54. 松果体	石田直理雄，本間研	時間生物学事典	朝倉書店	東京	2008	148-151

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hanita T, H Miyazawa, Ohta H, Matsuda T	Monitoring Preterm Infants' Vision Development with Light - only melanopsin is functional	J Pediatr	(in press)		2009
Ohta H, Xu S, Moriya T, Iigo M, Watanabe T, Nakahata N, Chisaka H, Hanita T, Matsuda T, Ohura T, Kimura Y, Yaegashi N, Tsuchiya S, Tei H, Okamura K	Maternal feeding controls fetal biological clock	PLoS ONE	3	e2601	2008
太田英伸	光環境が早産児・新生児の脳に与える影響：新しい光受容体「メラノプシン」のもつ意味	Biophilia	4	59-62	2008
松田直、斉藤昌利、渡辺達也、埴田卓志、三浦雄一郎、北西龍太、秋山志津子、渡辺真平、岡村州博	子宮内炎症と神経細胞死	日本周産期・新生児医学会雑誌	44	863-867	2008
Ueda K, Ikeda T	ntrapartum fetal heart rate monitoring in cases of congenital heart disease	AJOB	(in press)		2009
上田恵子，池田智明	胎児脳障害	臨床神経科学	26	880-881	2008

上田恵子，池田智明	胎児循環から新生児循環への移行，理解のポイント	日総研出版	3	50-55	2008
Bastos GN, Moriya T, Inui F, Katsura T, Nakahata N	Involvement of cyclooxygenase-2 in lipopolysaccharide-induced impairment of the newborn cell survival in the adult mouse dentate gyrus	Neuroscience	155	454-462	2008
Shimazoe T, Morita M, Ogiwara S, Kojiya T, Goto J, Kamakura M, Moriya T, Shinohara K, Takiguchi S, Kono A, Miyasaka K, Funakoshi A and Ikeda M	Cholecystokinin-A receptors regulate photic input pathways to the circadian clock	The FASEB Journal	22	1479-1490	2008
So K, Moriya T, Nishitani S, Takahashi H and Shinohara K	The olfactory conditioning in the early postnatal period stimulated neuronal stem/progenitor cells in the subventricular zone and increased neurogenesis in the olfactory bulb of rats.	Neuroscience	151	120-128	2008
渡辺達也、松田直	脳室周囲白質軟化症	小児科診療	3	559-565	2009

Ⅳ．研究成果の刊行物・別刷

11章

早産児・新生児の視覚環境

赤ちゃんの視覚に対する理解は，メラノプシン（melanopsin）とよばれる新しい光受容体の発見によって大きく変わろうとしている。光受容体とは，光（光子）をつかまえる蛋白質のことで，おもに目の網膜に存在する。メラノプシンの最大の特長は，明暗情報の処理（明るい暗いの認知）を行なうことである。これは，以前から知られていたロドプシン・コーンオプシンといった光受容体が映像情報の処理（形・色の認知）を行なっているのと対照的である。メラノプシンのもう1つの特長は，ロドプシン・コーンオプシンより早い発達段階で光情報の処理がスタートすることである。この点は赤ちゃんの生後発達と視覚環境の関係を考える上で特に重要な意味をもっている。メラノプシンの発見により，①早産児・新生児の体の成長に光環境が影響すること，②早産児と満期出産児の間でお母さんの顔を見分ける能力に差があること，をより明確に理解できるようになった。

1 早産児・新生児の視覚における2つのシステム

現在の視覚システムの理解はメラノプシンの発見（Provencio et al., 1998）によって新しいステージに入った。つい10年前までセキツイ動物の視覚機能は，ほぼ解明されたと考えられていた。網膜外側に位置する桿体・錐体細胞がまず光を検出し，網膜内側の節細胞を経由して，視神経から脳に伝達，映像が認識されるという構図である（図11-1）。さらに分子レベルの反応を見ると，桿体

細胞にはロドプシン，錐体細胞にはコーンオプシンという光受容体が存在する。これらの受容体は光を11-シス型レチナール（11-cis-retinaldehyde）という分子で捕まえることによって光信号を生化学信号に変換，最終的には電気信号に変えて視神経へ伝達する。また，桿体細胞は弱い光でも反応し白黒の区別をするものの，詳細な映像を脳に伝達することはできない。錐体細胞は光の強度が弱いと機能しないが，青・緑・赤の3色に反応するコーンオプシンをもち，詳細な映像を脳に伝達する。このようなメカニズムを通して桿体・錐体細胞は光信号を外界からキャッチする。

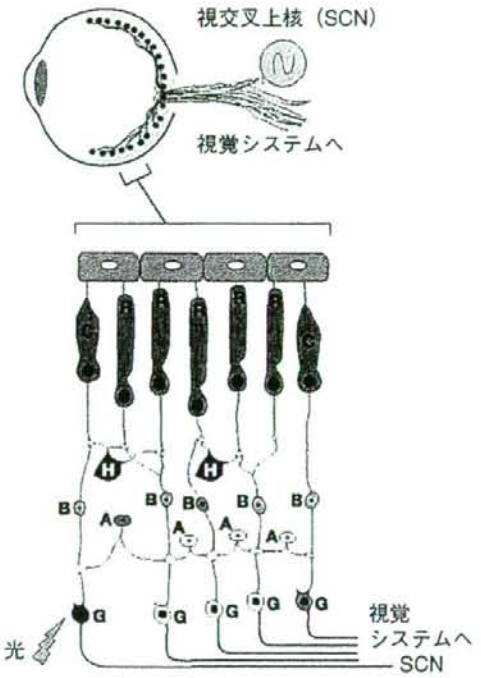


図11-1　網膜の視覚回路（Reppert & Weaver, 2002）

メラノプシンを含む節細胞は，桿体・錐体細胞を経由せず，光に直接反応し視神経を通して光情報を生物時計に伝える。節細胞は桿体・錐体細胞からの入力も受けている。R（rod cell）：桿体細胞，C（cone cell）：錐体細胞，H（horizontal cell）：水平細胞，B（bipolar cell）：双極細胞，A（amacrine cell）：アマクリン細胞，G（ganglion cell）：節細胞。

一方，近年発見されたメラノプシン（節細胞に存在する）は，形・色といった映像を脳に伝達することはできない。しかし興味深いことに明るい暗いといった周囲の明暗情報を伝達する（Provencio et al., 2000；Berson et al., 2002；

Sekaran et al., 2003)。映像を伝達できない視覚機能に意味があるのだろうかと，メラノプシンの性質を聞くと，その意義を軽視したくなるかもしれない。しかし，私達の生活の中で明暗情報を正確にとらえることは，たとえば適切な睡眠覚醒サイクルの維持・調節に重要である。メラノプシンを含む節細胞は視神経を介し，視交叉上核に到達する（Lucas et al., 2003)。視交叉上核は私達の頭のほぼ中心に位置し，脳の組織で生物時計ともよばれ，睡眠サイクルの調節に関係している。またメラノプシンを含む節細胞は，外側膝状体にも連絡している（図11-2)。

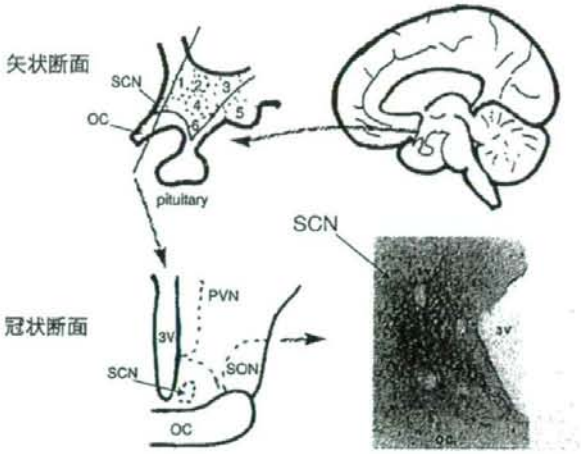


図11-2　ヒトの生物時計（視交叉上核）（Moore, 1993）

SCN (suprachiasmatic nucleus)：視交叉上核，OC (optic chiasm)：視交叉，Pituitary：下垂体，PVN (periventricular nucleus)：室傍核，SON (supraoptic nucleus)：視索上核，3V (the third ventricle)：第３脳室

外側膝状体は，桿体・錐体細胞からの映像が送信される部位でもあり，このことは節細胞から入力された明暗情報が桿体・錐体細胞から入力された映像情報を修飾する可能性を示している。加えてメラノプシンを含む節細胞は，光に対する瞳孔反射を担う脳の部位（視蓋前域オリーブ核：olivary pretectal nuclei）にも投射し，ロドプシン・コーンオプシンと共に瞳孔反射を調節している（Lucas et al., 2003)。

2 メラノプシンとロドプシン・コーンオプシンの発達はどちらが先か？

さて，この映像情報を担うロドプシン・コーンオプシンと明暗情報を担うメラノプシンの発達だが，メラノプシンの視覚システムが先に，ロドプシン・コーンオプシンの視覚システムが後に発達すると考えられている。たとえば，早産児として生まれた赤ちゃんは明暗情報を最初に認知し，その後映像情報を認知するしくみを発達させていく，と予想される。

(1) 遺伝子・蛋白質をマーカーとした光受容体の発達研究

分子生物学を使って，ヒト胎児網膜のメラノプシン・ロドプシン・コーンオプシン遺伝子の発現時期を遺伝子増幅法（RT-PCR法）で確かめた研究がある。研究グループによって若干のばらつきがあるが，メラノプシン遺伝子は胎生8－9週より，コーンオプシン・ロドプシン遺伝子は胎生14-16週よりヒト胎児の目に存在することが確認されている（Bibb et al., 2001；O'Brien et al., 2003；Tarttelin et al., 2003）。

これら遺伝子を設計図として，生体を実際にコントロールする蛋白質がつくられる。蛋白質の存在を免疫染色法（目的の蛋白に付着するように設計された抗体を使って蛋白を染色する方法）で確かめると，ロドプシン・コーンオプシン蛋白質はともに，胎生14－16週と遺伝子発現を認める同時期から存在することが確認された（ただ青に反応するコーンオプシン蛋白質は，免疫染色法では若干早く胎生11－13週に観察された）（O'Brien et al., 2003）。残念ながらヒト胎生期のメラノプシン蛋白質を確認した報告は現在のところない。また，ロドプシン蛋白質を網膜から化学的に抽出した研究では，妊娠27週齢の網膜では，ロドプシン蛋白質がほとんど検出されないのに対し，生後5週齢の乳児では大人の50%に相当するロドプシン蛋白質が検出されている（Fulton et al., 1999）。

しかし遺伝子・蛋白質の存在が確認されても，同じ時期にメラノプシン・ロドプシン・コーンオプシン蛋白質が実際にに機能しているとは限らない（蛋白質は生体のさまざな条件が整わなければ働きはじめない）。光刺激（明暗情報）・映像刺激を実際に生体に与え，その結果引き起こされる網膜・脳の反応を何らかの生理・心理学的な指標を使って確かめる必要がある。

(2) メラノプシンはいつ働きはじめるのか？

メラノプシン機能のスタート時期については，視覚システムがヒトに近いマントヒヒの早産児を対象に調べた研究がある（図11-3）。この研究では，ヒト早産児25－28週齢に相当するマントヒヒ早産児を帝王切開にて出生させた。夜の時間帯に暗闇の中で5,000ルクスという高いレベルの光を顔に当て（晴天時の室内窓際で自然光は1,000～2,000ルクスの照度である），視交叉上核（生物時計）に光信号が到達しているかどうか，c-fos遺伝子の発現を調べ確認している。この実験では光によって視交叉上核における神経活動が高まるとc-fos遺伝子の発現も上昇する性質を利用している。実際，この光照射によって視交叉上核におけるc-fos遺伝子の発現が高まり，ヒト胎児期25－28週に明暗情報が脳に伝達されると推測された（Hao & Rivkees, 1999）。この結果から，早産児でもメラノプシンを含む網膜の節細胞が働き，視神経を通し視交叉上核に明暗情報を送ると考えてよさそうである。

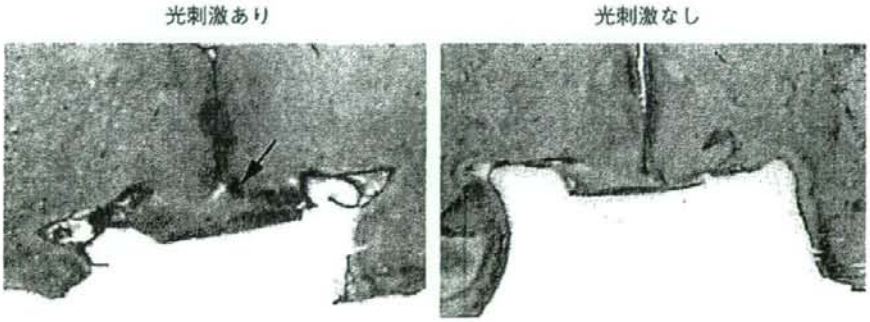


図11-3　光刺激に対するマントヒヒ早産児の生物時計の反応（Hao & Rivkees, 1999）
妊娠125日（ヒト妊娠25－28週齢相当）のマントヒヒ早産児の視床下部（冠状断面）。矢印は視交叉上核を示す。夜間の光刺激（5000ルクス）でc-fos遺伝子の発現が上昇し，光刺激のない個体に比べ同じ部位が黒く染まっている（左写真は光刺激あり。右写真は光刺激なし）。

(3) ロドプシン・コーンオプシンはいつ働きはじめるのか？

一方，映像情報を捕まえるロドプシン・コーンオプシン機能の開始時期を確かめた研究として，心理・電気生理の２つのアプローチが報告されている。

心理学的アプローチの例として，顔の表情を新生児が見分けることを確かめた研究がある。フィールド（Field et al., 1983）は，生後36時間の新生児に対

し，女性の顔をモデルとした幸福・悲しみ・驚きの各表情刺激を提示した。この実験では，表情刺激のタイプが変化した時点で，新しい表情刺激に対する新生児の注視時間が増加し，新生児が表情の違いを識別することが明らかになった（この方法は，赤ちゃんが目の前に提示された対象物を注視する時間の違いから，視覚機能を明らかにしようとする方法で選好注視法とよばれる）。同様の選好注視法によって，生後48時間以内の新生児が，無地の対象よりも，顔や同心円の描かれた対象をより長く見つめることが確かめられている（Fantz, 1963）。この結果は新生児が網膜のロドプシンあるいはコーンオプシンから映像情報を取り込み，すでに表情認識を行なっている可能性を示している。

一方，電気生理学的アプローチとして，光刺激に対する網膜電位（Electroretinogram；ERG）を各発達段階で確かめた研究がある（図11-4）。視神経の萎縮によって網膜内側の節細胞（メラノプシンが存在）が失われた状態でも，正常網膜と同様のERGが記録できることから，ERGの情報はおもにロドプシン・コーンオプシンが存在する網膜外側の組織に基づいていると推測される（van Boemel & Ogden, 2001）。このERGに着目すると，妊娠36週齢相

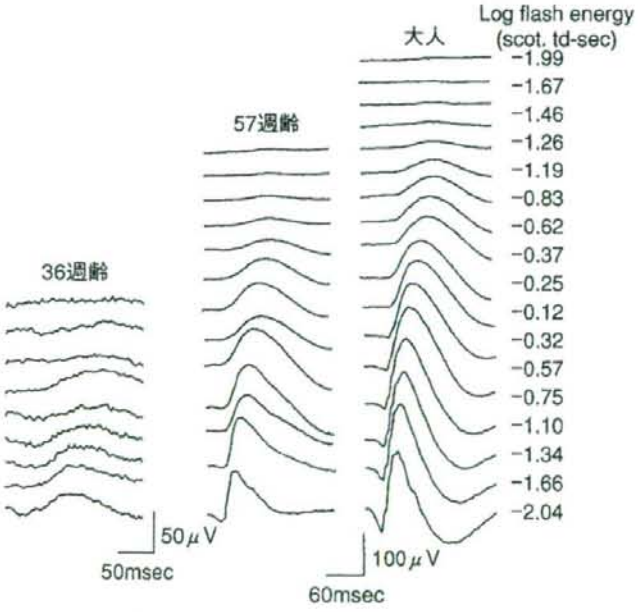


図11-4　光刺激に対するヒト網膜電位の発達（Hood et al., 1993）

光の強さは下段から上段に向かい小さくなっている。最も強い光刺激（最下段）でヒト早産児（妊娠36週齢）の網膜電位は成人の1/10以下。

当の早産児で観察されるb波の反応は大人の1/10以下であることが確認されている。その後生後6か月の時点で光刺激に対し大人と同じ振幅のERGの反応が認められる（Hood et al., 1993）。

以上の心理・電気生理学の研究から，赤ちゃんの映像を処理するロドプシン・コーンオプシンの機能は少なくとも生後1～2日から機能していると予想され，妊娠36週齢相当以前の早産児では，ロドプシン・コーンオプシンの機能が未熟で，うまく働いていない可能性がある（ただし，選好注視法を用いた妊娠36週前後の早産児が反応し，満期出産児の半分の視力があったとする報告もある（Morante et al., 1982））。

新生児の視力は生後1週間以内では0.03～0.13（スネレン（Snellen）値20/670～20/150）（Gorman et al., 1957；Dayton et al., 1964）と低く，1.0（スネレン値20/20）の視力になるのは早くとも6か月以降で（Marg et al., 1976；Sokol & Moskowitz, 1985），5歳頃までに大人と同等の視覚機能に到達する（Mayer & Dobson, 1980, 1982；Birch et al., 1983）。また，新生児は軽度の遠視・乱視を伴うことが多く，コントラストの識別についても，新生児のコントラスト感度は大人の5～10%に過ぎない（Atkinson, 2000；Banks & Shannon, 1993）。加えて，新生児は色の識別が不完全で白黒の世界に住んでいて，緑・赤の区別が可能となるのは生後2か月頃からである（Teller & Lindsey, 1993；Brown, 1990；Teller, 1997）。この色識別の発達過程から，色識別に重要なコーンオプシンの成熟にはさらに時間がかかることがわかる（詳細は1章参照）。

(4) ノック・アウトマウスを使った光受容体の発達研究

メラノプシンがロドプシン・コーンオプシンより早く発達することを直接証明した研究がある。ヒトとは動物種が異なるが，メラノプシン遺伝子を遺伝子操作により取り除いたマウス（ノックアウト・マウス）の研究である。

マウスでも，メラノプシン遺伝子がロドプシン・コーンオプシン遺伝子の発現より先行する。メラノプシンの遺伝子発現は胎生10日より（Cepko et al., 1996；Young et al., 1985），青色感知コーンオプシンの発現は胎生15日より（Fei, 2003），ロドプシンの遺伝子は生後6日より（Fei, 2003；Bibb et al., 2001），