

表 題 早産児における消化管ホルモンの動態と消化管機能・甲状腺機能
の関係の研究

論文の区分 論文博士

著 者 名 川 又 竜

所 属 自治医科大学
小児科学

2016年 2月 15日申請の学位論文

紹 介 教 員 自治医科大学大学院医学研究科
地域医療学系専攻 成育医学
職名・氏名 教授 河野 由美

目次

I	はじめに	3
II	研究 A 新生児・早産児における消化管ホルモンの動態	
(1)	背景	6
(2)	目的	7
(3)	対象と方法	7
(4)	結果	10
(5)	考察	19
III	研究 B 消化管症状を持つ早産児における低サイロキシン血症と消化管ホルモンの関係	
(1)	背景	26
(2)	目的	27
(3)	対象と方法	28
(4)	結果	31
(5)	考察	37
IV	本研究の限界	41
V	おわりに	42
VI	参考文献	44
VII	謝辞	55

I はじめに

近年、ヒトを含む哺乳類における摂食行動やエネルギー代謝を調整する体内のメカニズムが解明されてきており、特に中枢神経系と消化管、脂肪組織の相互関係が注目されている。視床下部にある摂食中枢と末梢臓器である消化管や脂肪組織の間には、迷走神経求心路や血液循環、脳血液関門などが介在し、これらの経路を介する摂食行動や消化管運動を調節する内在性因子として、様々な生理活性物質が存在する¹⁻³。そのうち、末梢臓器で産生される生理活性物質が消化管ホルモンである³。

消化管ホルモンには、ghrelinのように摂食を増進するもの⁴や、インクレチンホルモンと呼ばれる glucagon-like peptide-1 (GLP-1) や glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)、neuropeptide Y (NPY)ファミリーの peptide tyrosine tyrosine (PYY)や pancreatic polypeptide (PP)など、食餌摂取に反応して消化管細胞や膵島細胞から分泌され、摂食や消化管運動を抑制する働きも持つものがある(図 A)^{3,5-8}。膵島細胞から分泌される insulin や amylin、脂肪細胞から分泌される leptin は、比較的長期に渡ってのエネルギー代謝を調整し、血液中を循環して血液脳関門を通過し視床下部に到達し、摂食や消化管運動を抑制する作用を有していると考えられている^{2,9-12}。

摂食を調節する中枢側の臓器として、視床下部、脳幹などの神経核や神経野

が関わっている^{1,2}。特に視床下部の弓状核は、それぞれ摂食亢進・抑制に作用する摂食調節ペプチドを産生する NPY/アグーチ関連タンパク質 (agouti-related protein, AgRP)ニューロン、プロオピオメラノコルチン (proopiomelanocortin, POMC)ニューロンを有しており、摂食行動を調整する中心器官であると考えられている^{1,2,13,14}。

小児、特に新生児における、これらの消化管ホルモンや摂食調節ペプチドの、摂食行動や消化管機能、エネルギー代謝に対する役割は未だ解明がなされていない。さらに、経腸栄養が増やせない早産児で amylin 値が上昇することや¹²、正期産児に比べ早産児の PYY 値は高いこと¹⁵などから、早産児では消化管運動や摂食中枢が抑制されている可能性が示唆されるが、これまでに消化管ホルモンをプロファイリングした報告はない。

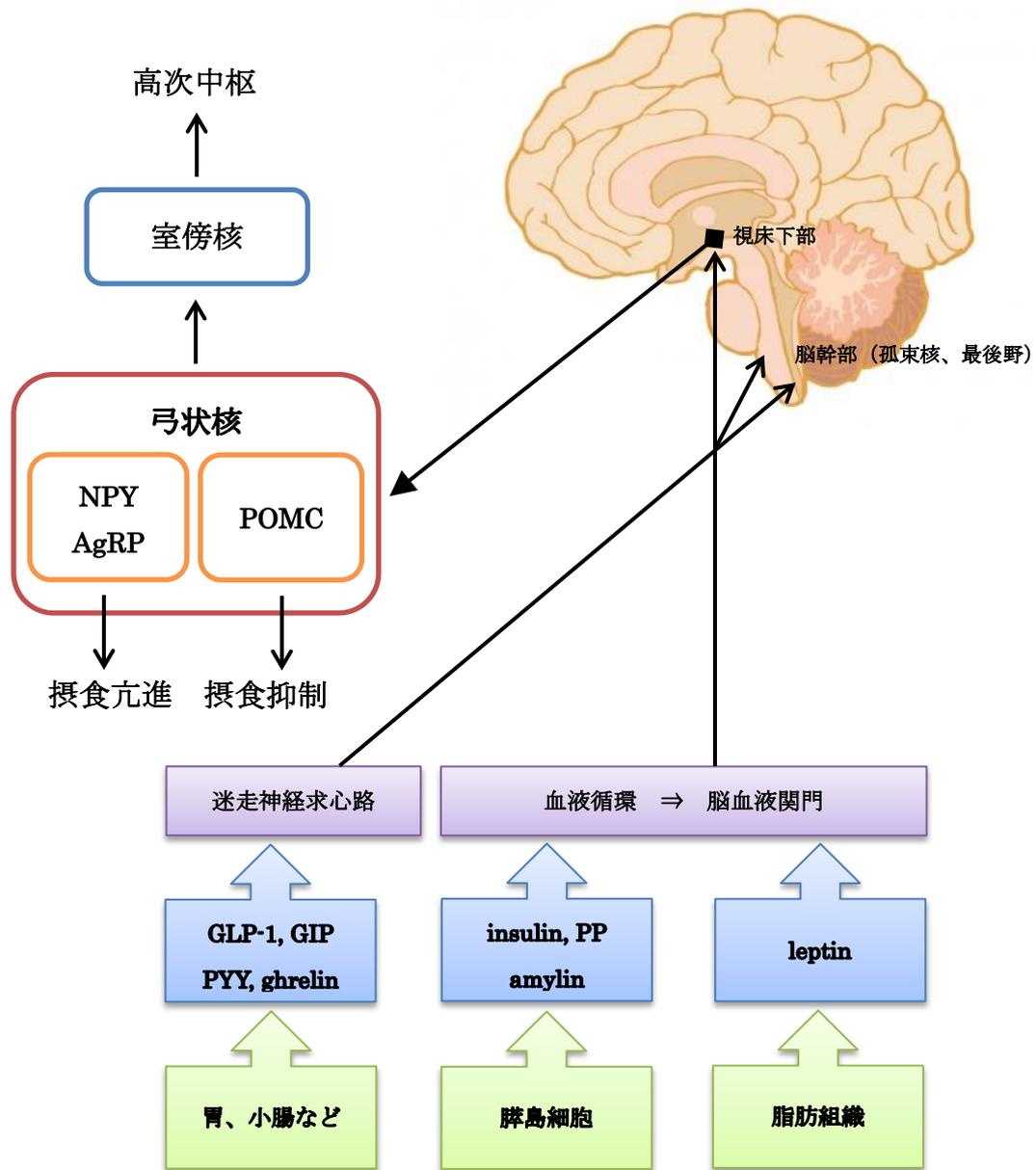


図 A : 消化管ホルモンと末梢臓器、中枢神経の関係 (文献 2 より引用、改変)
 NPY: neuropeptide Y, AgRP: agouti-related protein, POMC: proopiomelanocortin, GLP-1: glucagon-like peptide-1, GIP: glucose-dependent insulinotropic polypeptide, PYY: peptide tyrosine tyrosine, PP: pancreatic polypeptide

新生児や早産児には、胃食道逆流症や胎便関連性腸閉塞など、消化管機能の未熟性により起こる消化管疾患が存在する^{16,17}。早産児では、器質的・機能的な消化管異常がないにも関わらず、生後0~2か月に腹部膨満が出現し、経腸栄養がうまく収まらず、体重増加不良を示すことがあるが、その病態は十分に解明されておらず、有効な治療法が確立されていない。一方、この時期は成長、臓器の成熟の著しい時期でもあり、中でも中枢神経系の急激な発達には適切な栄養が不可欠とされる¹⁸ため、病態の解明と治療法の確立が望まれている。我々は、このような消化管症状を呈する早産児に、低サイロキシン血症を呈することがあり、その治療に甲状腺ホルモンの補充が有効であったことを学会報告した¹⁹。先天性甲状腺機能低下症の代表的症状は腹部膨満と体重増加不良であるため、早産児の甲状腺機能と消化管機能は強く関連することが予想される。しかし、消化管症状を伴う低サイロキシン血症を呈した早産児での消化管ホルモンの動態の検討はなく、病態との関連も不明である。

そこで、まず早産児の生後早期の消化管ホルモンの動態を解析し、さらに消化管ホルモンと低サイロキシン血症との関係を明らかにすることを目的に、本研究を行った。

研究 A 新生児・早産児における消化管ホルモンの動態

II-(1) 背景

成人や年長児に比べて、新生児や早産児では、摂食調節や消化管運動、エネルギー代謝に関連する消化管ホルモンの動態や役割は解明されていない。中でも早産児では在胎期間に応じて、各組織からの消化管ホルモンの分泌時期や分泌量に変化が生じる可能性が考えられる。

胎児期から新生児期の消化管ホルモンについて、動物実験では、PYY、insulin は胎生期早期から膵島細胞より分泌されているが、PP は膵島細胞の分化が進むにつれて分泌されるようになることや^{20, 21}、胎生期の ghrelin 遺伝子の発現は、胃よりも膵臓で多いことなどの報告がある²²。さらにマウスでは消化管ホルモンの代謝酵素活性が出生後早期には低いとする報告があり²³、早産児や新生児では、ホルモンの肝腎によるクリアランスが、成人よりも低い可能性が示唆されている。ヒトでは、臍帯血中の leptin は在胎期間との相関があることが報告されている²⁴が、ヒト、特に早産児での消化管ホルモン動態についての研究は少ない。

一方、新生児の食餌摂取は、経腸栄養の内容、摂取量、摂取方法は成人とは全く異なり、これらは在胎期間や出生後の日齢によって変化する。特に早産児では、摂食・嚥下機能や消化管機能が未熟であるため、3~4 時間間隔で決められた母乳や人工乳の経管による経腸栄養が行われ、この栄養法は必ずしも児の

空腹感や意志に依存していない。これらのことから、早産児や新生児の消化管ホルモンの分泌は、成人や小児での食餌摂取に伴う生理的変化とは異なることが推測される。

Ⅱ－(2) 目的

消化管症状がなく経腸栄養に問題のない正期産児・早産児において、8種類の消化管ホルモン（leptin、GIP、GLP-1、PYY、PP、insulin、amylin、ghrelin）を測定し、出生時の血清中濃度と在胎期間との関係、生後10週までの変化を検討し、新生児・早産児における消化管ホルモンの動態を明らかにする。

Ⅲ－(3) 対象と方法

① 対象

2009年9月から2011年3月の間に、自治医科大学附属病院総合周産期母子医療センター新生児集中治療部に入院した児を対象とした。対象からは、器質性あるいは機能性の消化管疾患、重度の新生児仮死、先天性奇形症候群、重症感染症、small for gestational age (SGA) 児のうち日本人の出生体重基準曲線において5パーセンタイル未満の児、20%濃度以上のブドウ糖液やステロイド薬の静脈内投与を必要とする低血糖症のある新生児を除外した。またいずれに該当しなくとも、生後1週以内に経腸栄養を開始できなかった新生児も選択から除外した。その結果、早産児29名、正期産児5名となった。

② 対象の分類

出生時の在胎期間により、在胎 31 週未満をグループ 1、在胎 31 週以上 37 週未満をグループ 2、在胎 37 週以上をグループ 3 とした。

③ 倫理的配慮

自治医科大学生命倫理委員会から承認を得た上で、本研究を行った（臨 09-20、11-10）。対象としたすべての新生児の保護者に対して、本研究の目的や内容について文書を用いて説明した後に、研究参加への同意を文書で得た。

④ 検体採取方法

8 種類の消化管ホルモンの測定に用いた血液検体は、皮静脈穿刺による静脈血またはヒールカット法による混合血を 1 検体につき全血で 200 μ L 採取した。出生時の血液検体は、出生後 1 時間以内に採取した。以降は、出生後 4 週までは 1 週間毎、出生後 10 週までは 2 週毎に血液検体を採取した。出生後 10 週に至る前に退院した場合には、退院時までの血液採取で終了とした。血液検体は、すべて哺乳直前の空腹時である午前 6 時に採取した。得られた血液検体は、遠心分離器（3000rpm、10 分）により血清を分離した後、測定を行うまで -70°C のフリーザーで凍結保存した。

⑤ 消化管ホルモンの測定方法

消化管ホルモンの測定には、Bio-Plex[®] protein assay system (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)による cytometric bead array technology を用いた²⁵。また、アッセイキットは MILLIPLEX[™] MAP Human Gut Hormone Panel (Millipore, Billerica, MA, USA)を用いて、leptin、総 GIP、活性型 GLP-1、総 PYY、PP、insulin、活性型 amylin、活性型 ghrelin の 8 種類の消化管ホルモンの血清中濃度を同時に測定した²⁶。測定手順はキットのマニュアルに従ったが、活性型 GLP-1 の分解酵素である dipeptidyl peptidase (DPP) -IV 阻害薬、amylin の分解酵素を阻害するプロテアーゼ阻害薬混合物、ghrelin の分解阻害薬である aprotinin または ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) の採取血液への添加は行わなかった。

⑥ 統計処理法

統計解析ソフト Minitab version 17.1.0 for Windows (Minitab Inc., State College, PA, USA)、Statcel 3 (オーエムエス出版、埼玉、日本)を用いて解析を行った。検出感度以下の計測値は、統計処理のため 0 pg/mL とした。解析結果は平均 ± 標準偏差で表記した。独立した 3 群間以上の比較は、Kruskal-Wallis 検定、Steel-Dwass 検定あるいは χ 二乗検定を用いた。2 項間の相関関係は、Spearman 相関係数を用いた。p 値は 0.05 未満を統計学的に有意差ありとした。

II-(4) 結果

① 対象の特性 (表 A-1)

グループ 1 の児の出生体重、出生時身長、Apgar スコアは、グループ 2 あるいは 3 よりも有意に低値であった。経腸栄養を開始した日齢は、グループ 1 でグループ 2、3 よりも有意に遅かった。日齢 7、14 の体重あたり一日経腸栄養量も、グループ 1 はグループ 2 あるいは 3 よりも有意に少量であった。

② 在胎期間グループ別の出生時の消化管ホルモン値 (表 A-2)

出生時の消化管ホルモン値のうち、グループ 1 の血清 leptin 値は、グループ 2 よりも有意に低値を示した。他の消化管ホルモンについては、グループ間に統計学的有意差はなかった。

③ 出生時の消化管ホルモン値と在胎期間の関係

全対象、およびグループ 3 を除く早産児のみで、出生時の消化管ホルモン値と在胎期間の相関を解析した(表 A-3)。有意な相関は散布図を示した(図 B-1, 2)。血清 leptin 値は全対象、早産児のみ共に、在胎期間との間に統計学的に有意な強い正の相関を認めた。血清 GLP-1 値は、早産児のみで有意な比較的弱い負の相関を認めた。血清 PP 値は、全対象、早産児のみ共に、有意な比較的弱い正の相関を示した。血清 insulin、amylin 値は、全対象において統計学的に有意な弱い負の相関を示したが、早産児のみでは有意な相関は認めなかった。

表 A-1 : 対象の特性

		グループ 1 (在胎 31 週未満) (n=14)	グループ 2 (在胎 31-36 週) (n=15)	グループ 3 (在胎 37 週以上) (n=5)	p 値
在胎期間 (週)		28.2±1.4	33.8±1.4	38.0±1.7	<0.001 ^a
性別 (男/女)		11/3	6/9	3/2	0.12
SGA/AGA		1/13	3/12	3/2	0.04 ^b
分娩様式 (経膣分娩 /帝王切開)		1/13	2/13	1/4	0.72
出生体重 (g)		1115.9±220.0	1838.3±403.4	2350.8±1019.3	<0.001 ^c
出生時身長 (cm)		37.1±2.7	43.4±2.7	46.2±5.0	<0.001 ^c
ponderal index (kg/m ³)		21.6±1.5	22.2±2.3	22.6±2.4	0.71
Apgar スコア	1 分	5.2±2.5	7.2±1.4	6.6±2.6	0.02 ^e
	5 分	7.4±1.4	8.7±0.5	8.4±1.3	0.01 ^e
臍帯 動脈血	pH	7.30±0.05	7.31±0.05	7.25±0.16	0.67
	BE	-3.5±4.4	-3.1±2.9	-5.4±6.3	0.96
経腸栄養開始 日齢 (日)		4.2±1.2	2.3±1.5	1.2±1.3	0.01 ^d
経腸 栄養量 (mL/kg/日)	日齢 7	48.1±26.6	116.0±40.9	156.4±6.0	<0.001 ^a
	日齢 14	126.3±25.5	153.8±17.2	169.0±15.4	0.002 ^e
	日齢 28	145.5±6.5	158.1±13.6	168.4±0*	0.051

p 値は Kruskal-Wallis 検定. 群間比較は以下の通り表記した. : グループ 1 < 2 < 3^a,
グループ 1, 2 < 3^b, グループ 1 < 2, 3^c, グループ 1 > 2, 3^d, グループ 1 < 2^e

AGA: appropriate-for-gestational age, SGA: small-for-gestational age, BE: base excess.

*n=1

表 A-2 : 在胎週数グループ別における出生時の消化管ホルモン値の比較

	グループ 1 (在胎 31 週未満) (n=14)	グループ 2 (在胎 31-36 週) (n=15)	グループ 3 (在胎 37 週以上) (n=5)	p 値
leptin	310.2±292.0	1938.3±1534.3	2504.1±1828.5	0.001*
GIP	21.8±10.6	25.4±12.5	34.5±23.0	0.44
GLP-1	58.5±32.8	33.2±21.6	39.2±32.5	0.18
PYY	430.0±269.7	281.0±133.8	432.2±292.9	0.52
PP	42.8±39.3	73.7±42.5	65.6±35.5	0.16
insulin	171.1±182.8	105.9±242.6	53.1±68.8	0.11
amylin	30.2±38.7	12.2±33.7	ND	0.052
ghrelin	ND	ND	ND	—

p 値は Kruskal-Wallis 検定. *:グループ 1 < 2, 血清消化管ホルモン値の単位: pg/mL.

GIP: glucose-dependent insulinotropic polypeptide, GLP-1: glucagon-like peptide-1, PYY: peptide YY, PP: pancreatic polypeptide, ND: not detected.

表 A-3 : 出生時における消化管ホルモン値と在胎期間の相関

	全対象 (n=34)		早産児のみ (n=29)	
	Spearman 相関係数	p 値	Spearman 相関係数	p 値
leptin	0.649	<0.001	0.699	<0.001
GIP	0.198	0.26	0.081	0.67
GLP-1	-0.292	0.09	-0.405	0.03
PYY	-0.069	0.69	-0.126	0.50
PP	0.345	0.048	0.424	0.03
insulin	-0.360	0.04	-0.352	0.06
amylin	-0.390	0.03	-0.271	0.15
ghrelin	ND	—	ND	—

GIP: glucose-dependent insulinotropic polypeptide; GLP-1: glucagon-like peptide-1; PYY: peptide YY; PP: pancreatic polypeptide; ND: not detected.

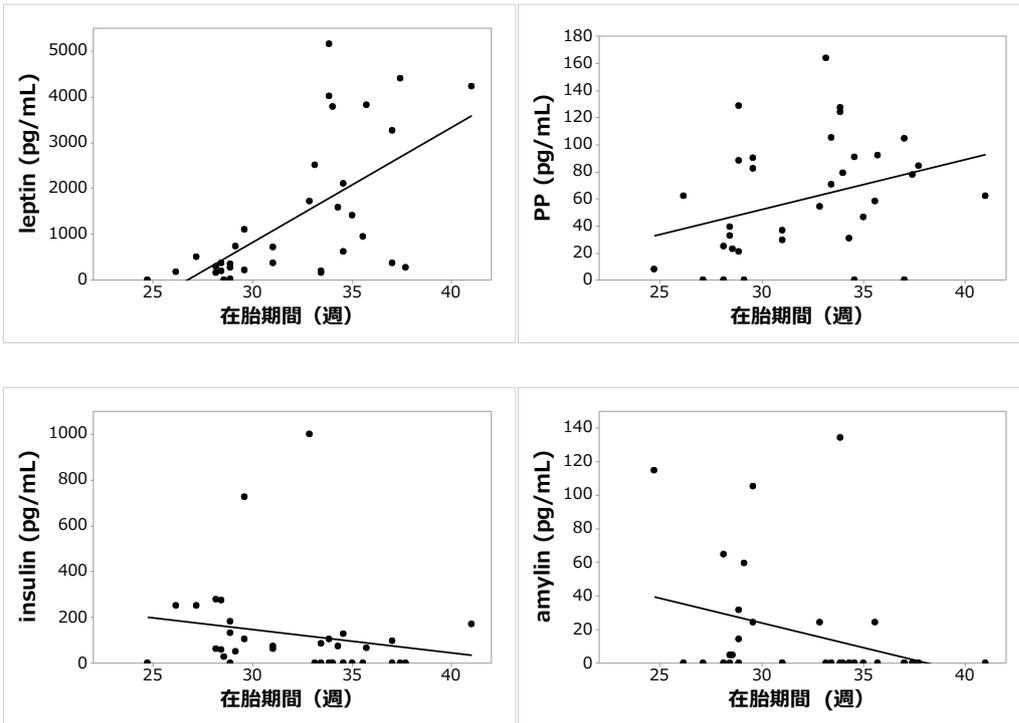


図 B-1 : 全対象での出生時血清 leptin, PP, insulin, amylin 値と在胎期間の関係
直線は回帰直線を示す。

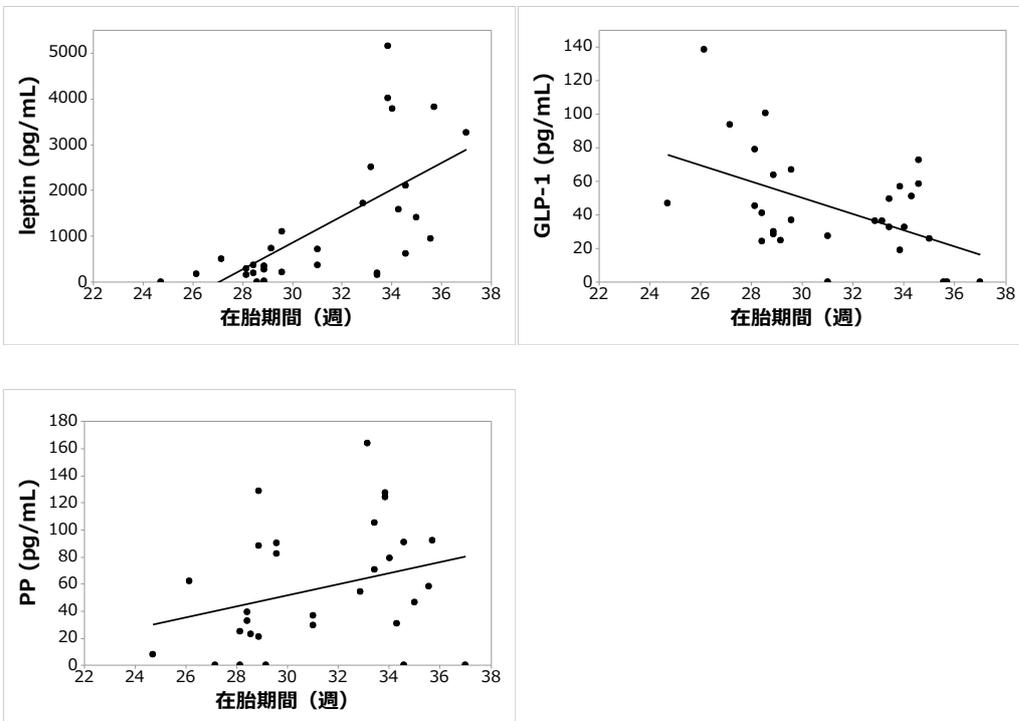


図 B-2 : 早産児における出生時血清 leptin, GLP-1, PP 値と在胎期間の関係
直線は回帰直線を示す。

④ 早産児における消化管ホルモンの生後変化

次に、早産児の出生後 1 週以降の消化管ホルモン値を、出生時の消化管ホルモン値とそれぞれ比較した (表 A-4)。

血清 leptin 値は、出生後 1 週に急激に減少し、出生後 6 週までは出生時と比較して有意に低値であった。血清 GIP 値は出生後 1 週から上昇し、出生時と比べて 8 週まで有意に高値であった。血清 GLP-1 値は出生後 1 週より緩徐に上昇し、3 週では出生時と比較し有意な高値を示したが、4 週以降では有意差はなかった。血清 PYY 値は出生後 1 週から 6 週にかけて有意に高値を示した。血清 PP、insulin、amylin 値は、出生時と比較して 10 週まで変化を認めなかった。血清 ghrelin 値は、すべての測定検体で計測感度以下であった。

在胎 37 週以上の正期産児は 5 症例と少数であり、出生後 10 週にわたって血液検体の採取を継続できた症例が存在しなかったため、生後変化について解析できなかった。

表 A-4：早産児における消化管ホルモンの生後変化

生後週数	出生時 (n=29)	1 週 (n=20)	2 週 (n= 13)	3 週 (n= 11)
leptin	1152.3±1385.9	81.4±118.6*	136.1±264.1*	251.7±574.3*
GIP	23.7±11.8	87.9±57.1*	114.1±50.9*	183.7±75.5*
GLP-1	45.4±30.3	71.7±42.7	92.6±54.4	112.1±53.7*
PYY	353.0±223.4	634.3±277.2*	808.4±287.7*	815.0±196.8*
PP	58.8±43.8	82.2±78.9	95.2±76.3	96.4±50.4
insulin	137.4±218.3	110.0±195.6	139.4±215.7	316.3±374.7
amylin	20.9±37.3	12.7±26.0	39.9±67.9	2.6±8.1
ghrelin	ND	ND	ND	ND
生後週数	4 週 (n=11)	6 週 (n=7)	8 週 (n=6)	10 週 (n=3)
leptin	86.5±111.0*	79.3±142.5*	420.7±434.3	806.0±451.7
GIP	197.7±86.8*	149.5±73.8*	124.9±42.0*	127.9±17.2
GLP-1	93.6±66.3	98.0±57.4	86.2±55.3	95.4±33.7
PYY	774.1±195.1*	800.9±160.2*	718.1±264.2	719.6±183.5
PP	132.8±130.8	70.4±44.5	65.1±38.9	120.3±45.8
insulin	166.7±143.0	29.2±40.8	52.8±92.3	11.0±15.5
amylin	20.2±32.7	10.9±18.0	37.5±33.8	31.8±23.2
ghrelin	ND	ND	ND	ND

血清消化管ホルモン値の単位：pg/mL.

Steel-Dwass 検定による出生時との比較, *: p<0.05

GIP: glucose-dependent insulinotropic polypeptide; GLP-1: glucagon-like peptide-1, PYY: peptide YY, PP: pancreatic polypeptide, ND: not detected.

⑤ 在胎期間グループ別の早産児における消化管ホルモンの生後変化

Ⅱ-(3)-④で統計学的に有意な生後変化のみられた leptin、GLP-1、GIP、PYY の4種類について、グループ別に出生後の生後変化を検討した。

血清 leptin 値はグループ2で出生後1週時に有意に低値となった(図 C-1)。

血清 GIP 値は、グループ1で出生後3, 4, 6週にそれぞれ有意に高値となった。

グループ2では出生後1~4週で増加したが有意差は認めなかった(図 C-2)。血

清 GLP-1、PYY はグループ別では有意な変化を認めなかった(図 C-3, 4)。

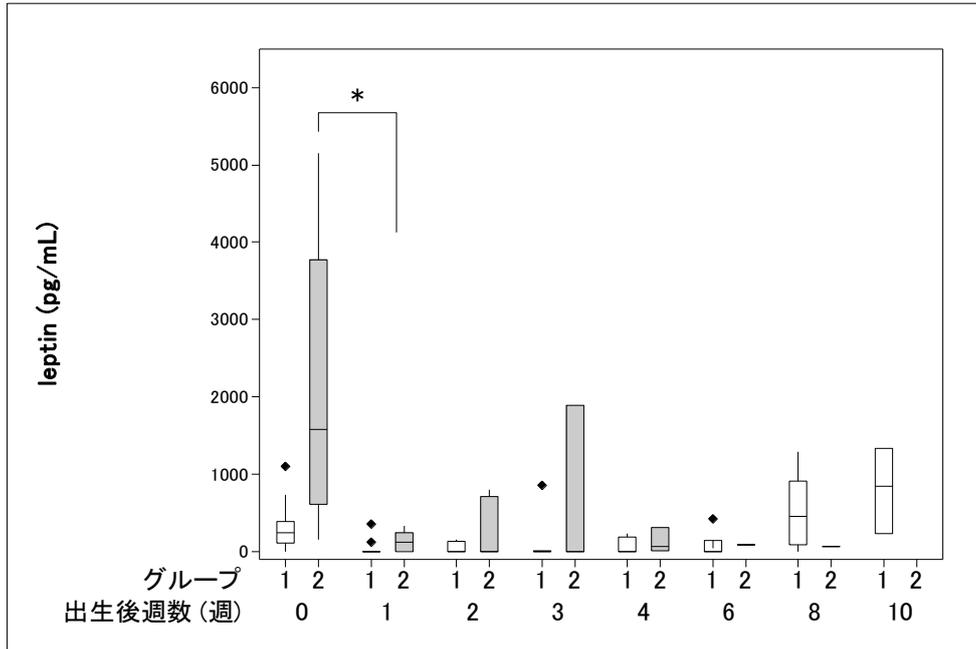


図 C-1： 在胎週数によるグループ別の早産児における血清 leptin 値の生後変化
ひげ箱図で示す。(中央値, 範囲は 25~75 パーセントイル, ◆: 外れ値,
Steel-Dwass 検定によるグループ間の比較, *: $p < 0.05$)

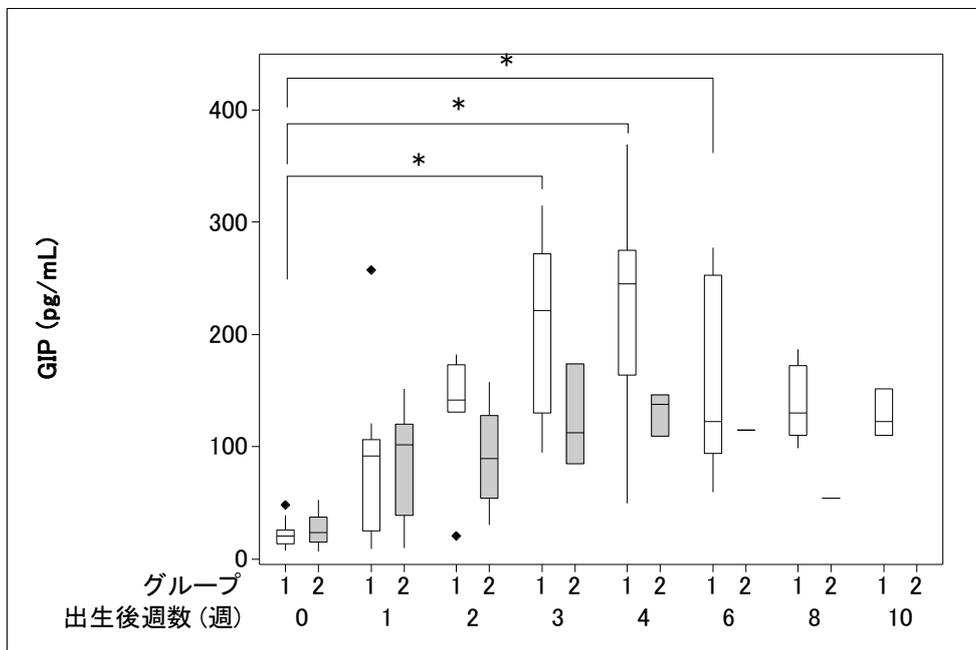


図 C-2： 在胎週数によるグループ別の早産児における血清 GIP 値の生後変化
ひげ箱図で示す。(中央値, 範囲は 25~75 パーセントイル, ◆: 外れ値,
Steel-Dwass 検定によるグループ間の比較, *: $p < 0.05$)

GIP: glucose-dependent insulinotropic polypeptide.

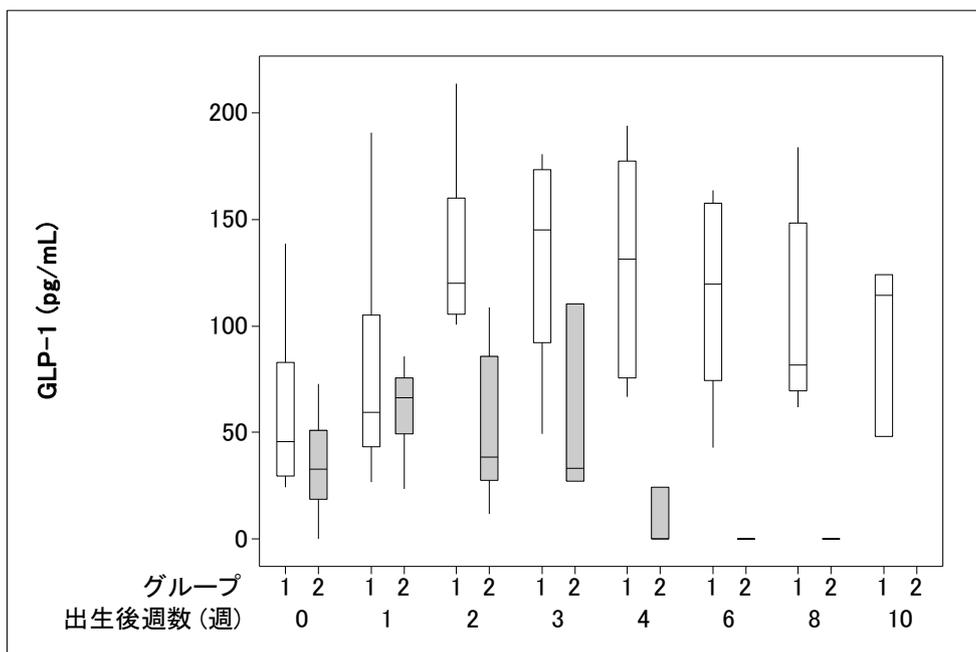


図 C-3：在胎週数によるグループ別の早産児における血清 GLP-1 値の生後変化
ひげ箱図で示す。(中央値, 範囲は 25~75 パーセントイル)

GLP-1: glucagon-like peptide-1.

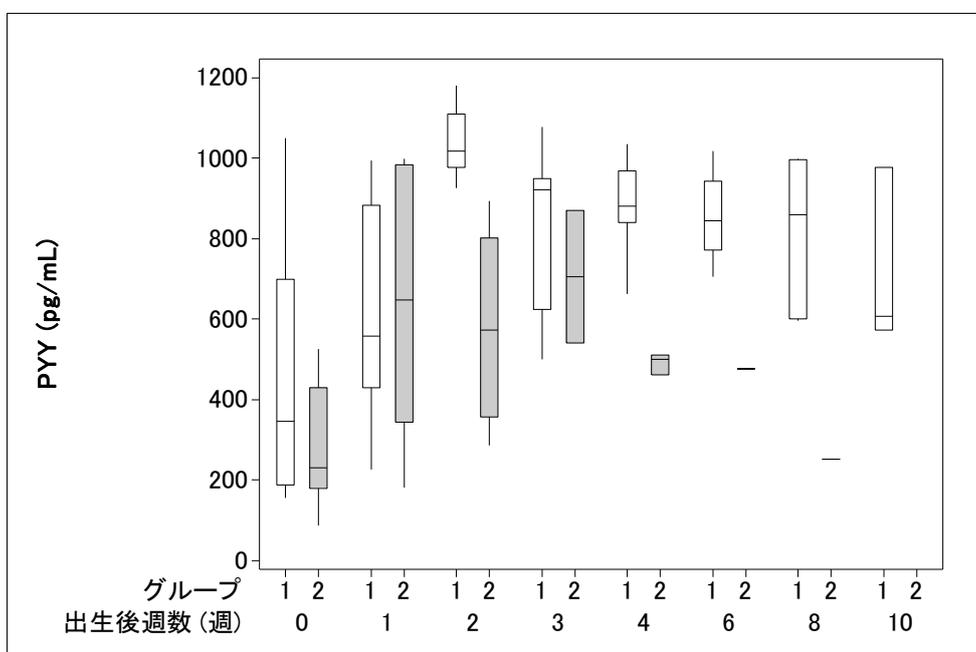


図 C-4：在胎週数によるグループ別の早産児における血清 PYY 値の生後変化
ひげ箱図で示す。(中央値, 範囲は 25~75 パーセントイル)

PYY: peptide YY.

II-(5) 考察

本研究の結果から、特定の消化管ホルモンにおいて、① 新生児・早産児の在胎期間と出生時の血清消化管ホルモン値が関連すること、② 早産児において出生直後から生後2か月の間に特徴的な生後変化を示すことが明らかとなった。

① 出生時の血清消化管ホルモン値と在胎期間との関係について

血清 leptin 値は在胎 31 週未満の早産児では低値であり、在胎期間と強い正の相関を認めた。胎児における皮下脂肪は、在胎期間が進むにつれて増加し、特に在胎 34 週前後に急速に増加するとされる²⁷。Karakosta らは、新生児期において臍帯血中の leptin 濃度と出生体重、出生時身長、ponderal index の間に正の相関があり、また脂肪組織量とも正の相関を認めたとしている²⁸。成人と同様に、胎児・新生児において在胎期間が進み皮下脂肪が蓄積するにつれて、脂肪細胞における leptin の産生が増加することが示唆される。

一方、leptin は合胞体栄養膜細胞で産生されるヒト胎盤由来のサイトカインの一つでもある²⁹。胎盤由来の leptin は母体循環へと放出されていることに加えて、他の胎盤由来のホルモンと比較すると、より高い割合で胎児循環にも放出されている³⁰。Gomez らは、臍帯血中の leptin 濃度と胎盤重量の間に正の相関があったと報告しており³¹、本研究結果からも、在胎期間が進み胎盤機能が成熟するに

つれて、ヒト胎盤に由来する leptin の胎児への移行の増加が示唆された。

出生時の血清 GLP-1 値と在胎期間には、早産児を対象とした場合にやや強い負の相関を認めた。GLP-1 は小腸下部から分泌された後、分解酵素である dipeptidyl peptidase (DPP)-IV によって数分で急速に分解され、生物学的活性を失う³²。Detel らは、出生後 2 週のマウス新生児において DPP-IV 活性は非常に低く、出生後 2~3 か月の間に活性が上昇すると報告している²³。またヒト新生児でも、出生後の血清 GLP-1 値の上昇には、健常成人と比較して GLP-1 の腎クリアランスが低いことに加えて、DPP-IV 活性が低値であることが関与すると考えられている³³。本研究では DPP-IV 阻害薬を使用しなかったにも関わらず、早産児における出生直後の血清 GLP-1 値は、DPP-IV 阻害薬の添加を行って測定された空腹時の成人値³⁴よりも高値であり、早産児では DPP-IV 活性が低いのではないかと推測した。これらのことから、早産児に認めた血清 GLP-1 値と在胎期間と負の相関は、在胎期間の短い早産児ほど、GLP-1 の腎クリアランスや DPP-IV 活性が低いこととの関連を示し、今後早産児における DPP-IV 活性の検討が必要と考えられた。

Adrian らの報告によると、臍帯静脈血中の PYY 濃度は、正期産児では早産児よりも高値であった³⁵が、本研究では、出生時の血清 PYY 値には在胎期間との間に相関は認めなかった。また出生時の血清 PP と在胎期間との間には弱い正の

相関を認め、さらに出生時の血清 insulin 値と在胎期間の間には、全対象の場合に弱い負の相関を認めた。Upchurch らは、ラットにおいて PYY は insulin などと共に、胎生期の早い段階ですでに未分化な膵島細胞から分泌されている消化管ホルモンであり、在胎期間が進むにつれて PP などを分泌する膵島細胞へと分化・成熟してゆくことを報告している (図 D)²⁰。グループ 1 の早産児で PYY が正期産児と同等であったことや PP の在胎期間と弱い正の相関は、ヒトにおいても同様の膵島細胞の分化・成熟過程を経ることを示唆する結果と考えられた。

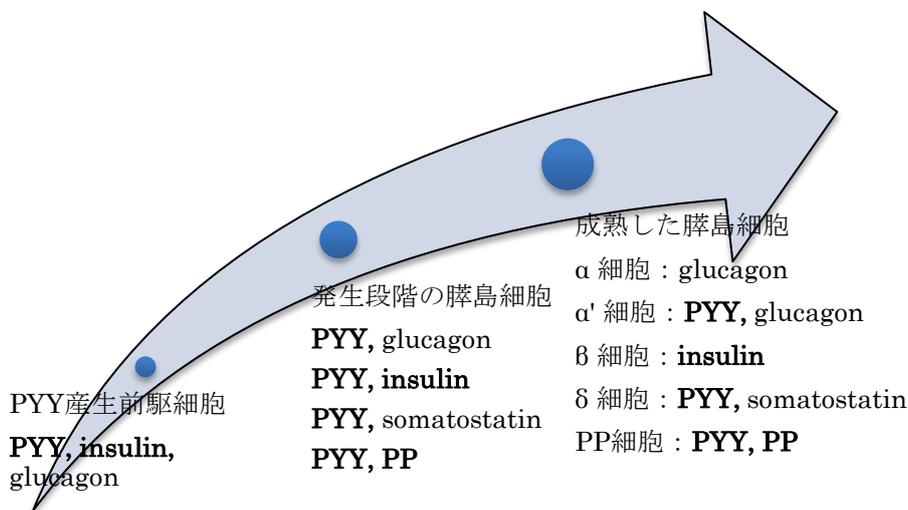


図 D ラット PYY 産生前駆細胞から 4 系統 (α, β, δ, PP 細胞) の膵島細胞への分化のモデル図 (文献 20 から引用、改変)
 太字は、本研究で対象とした消化管ホルモンを示す。

② 早産児における消化管ホルモンの生後変化について

早産児の血清 leptin 値は日齢 0 で最も高い値を示した後、出生後 1 週以降に急激な減少を示した。これは胎児が出生後に胎盤から分離されて、ヒト胎盤に由来する leptin が供給されなくなることが原因の一つと考えられる。leptin は脂肪細胞から分泌され、食欲や消化管運動を抑制し、交感神経の活動性を亢進させてエネルギー消費を増大させるホルモンである^{2, 3, 9}。出生直後の急速な血清 leptin の減少は、出生後の摂食行動や消化管運動を促すと共に、皮下脂肪の蓄積に乏しい早産児において出生後のエネルギー消費を抑えるため、早産児には有利に作用すると考えられる。

動物実験では、出生 1~2 週後に血清 leptin 値が大きく上昇する leptin surge が存在し、視床下部の弓状核、室傍核などにおけるニューロン形成に作用し、摂食行動や中枢神経発達に影響を与えているとの報告がある³⁶⁻³⁸。今回の結果では、出生後 2~3 週以降で血清 leptin 値が上昇する症例を認めたが、leptin surge といえるような有意な一過性上昇はみられなかった。ヒト早産児での leptin surge の有無や時期については不明であり、今後さらに多くの症例で検討を重ねる必要がある。

新生児・早産児の出生直後の血清 GIP 値は、成人における空腹時の血清 GIP 値³⁹と比べて低値であったが、早産児では出生後 2 週以降高値となり、3~4 週

でピークとなった。血清 GLP-1 値も、出生直後ではこれまでの早産児での報告⁴⁰とほぼ同レベルであったが、出生後 1 週以降に増加傾向となり 3~4 週でピークとなった。また、出生後 3~4 週の血清 GIP、GLP-1 のピーク値は、報告されている成人における空腹時の値（それぞれおよそ 80~85 pg/mL, 20~25 pg/mL）^{34, 39}よりも高値であった。これらの結果は、在胎 34 週以降の早産児の出生後 4~10 日での空腹時の血清 GLP-1 値が、成人の空腹値の 4~5 倍程度であったとする Padidela らの報告と比較的一致していた³³。Berseth らも、新生児、早産児における出生後 5 日前後の血清 GIP 値は、成人よりも高値であったとしている⁴¹。本研究では、早産児では出生後 3~4 週に渡って成人値より高値であることが新たに示された。

新生児、早産児では、出生後 1~2 週の短い期間で急激に経腸栄養量の増加が起こり、しかも 3~4 時間毎の短い間隔で経腸栄養が供給される。またこの栄養サイクルは、離乳開始までの出生後数か月に渡って継続される。GIP や GLP-1 といったインクレチンホルモンは消化管内への食物流入の刺激を受けて分泌が促されるため、早産児や新生児では成人と比較して、より頻回に強い分泌刺激を受けることで、出生後長期に渡って高値を示していると考えられた。

またインクレチンホルモンは insulin 分泌を増加させて、肝で糖新生を抑制し、血液中の糖の筋肉、脂肪組織などへの取り込みを促進してエネルギーを保持す

る働きや、消化管運動を抑制する作用を持っている⁶。そのため血清 GLP-1、GIP が高値であることは、腸管機能が未熟である早産児において適度に消化管内容を停滞させ、消化吸収やエネルギーを蓄積することに有利に作用すると考えられる。

出生以降の空腹時の血清 PYY について、新生児では成人よりも高値であったとする報告がある。血清 PYY 値は出生後 6 日目には高値を示しており、12 日目をピークに空腹時での成人値⁴²の 10 倍以上まで上昇して、出生後 18 日目でも高値を示した³⁵。本研究でも、早産児では出生時と比較して出生後 1~6 週まで高値を示し、特に在胎 31 週未満の早産児では出生後 10 週まで高値である症例が多くみられた。PYY は視床下部、迷走神経求心路を介して摂食行動を抑制する他に、消化管運動、胃内容物排泄、胃酸分泌、膵外分泌を抑制する働きも持つ^{42, 43}。早産児での血清 PYY 値の上昇は、頻回かつ出生後短期間に増量される経腸栄養に刺激され、成人と比較してより多くの PYY が消化管分泌細胞から分泌されるからではないかと推測されるが、経腸栄養の消化吸収に抑制的に働くという意味では不利益になり、その生理的意義については今後の検討を要する。

PP は胃液分泌や摂食の抑制作用があると考えられており、小児の空腹時の血清 PP は成人よりも高値であったとの報告がある⁴⁴。本研究では早産児の出生時および出生以降を通して空腹時の成人値 (113 ± 35 pg/mL)⁴⁴ とほぼ同程度であ

り、早産児特有の変化はみられなかった。

血清 amylin は、出生後正期産児では全検体、早産児では 115 検体中 78 検体で測定感度以下であった。特に正期産児の amylin 値は全検体で感度以下であったため、全対象で出生時にみられた血清 amylin 値と在胎期間との相関の有意性には、今回の検体採取の直後にプロテアーゼ阻害薬混合物を添加しなかったことが結果に影響したと考えた。血清 ghrelin 値は、全検体で感度以下であった。この結果にも、今回の検体採取の直後にプロテアーゼ阻害薬を添加しなかったことが影響したと考えられた。

以上から新生児・早産児の消化管ホルモン値の生後変化は、在胎期間の影響の他に、消化管ホルモンの種類により違いがあること、新生児期の経腸栄養量が生後早期に急激に増加し、頻回な経腸栄養摂取を行うことによる影響を受けることが示唆された。

研究 B 消化管症状を持つ早産児における低サイロキシン血症と消化管ホルモンの関係

Ⅲ-(1) 背景

出生後に腹部膨満や便排泄遅延が出現し、経腸栄養が進まず体重増加が得られない早産児の中には、低サイロキシン血症を伴っている場合がある¹⁹。

在胎 30 週未満の低出生体重児で、血清 thyroxine (T4)、free thyroxine (fT4)は出生後 7 日目までに急速に低下し、その後緩徐に上昇傾向を示すことが報告されている⁴⁵。このような早産児の一過性低サイロキシン血症は、視床下部-下垂体-甲状腺系の未熟性と、出生後に母体や胎盤からの T4 供給が途絶するためと考えられている⁴⁶。早産児の低サイロキシン血症の合併症とその予後については多くの報告があるが⁴⁷⁻⁴⁹、消化管症状を起こすメカニズムや病態については解明されていない。

甲状腺ホルモンは摂食の調節に重要な役割を担っている^{2,50}。動物実験では、triiodothyronine (T3) を 6 日間皮下注射し続けたところ、摂食行動が増強したとする報告がある⁵¹。また甲状腺機能低下症で胃内排泄の低下を示したとされ^{52,53}、甲状腺機能と消化管運動の関係が示唆される。消化管ホルモンと甲状腺ホルモンの関係は、動物実験では PYY の主要構成物である PYY₃₋₃₆ を腹腔内投与したところ、甲状腺刺激ホルモン (Thyroid-stimulating hormone; TSH) の分泌量

が増加したと報告されている⁵⁴。ヒトでは血清 ghrelin は甲状腺機能亢進状態では増加し、甲状腺機能が低下すると減少した⁵⁵。これらから、摂食や消化管機能には甲状腺ホルモン、消化管ホルモンの相互が関与していると推測され、早産児の低サイロキシン血症の消化管症状の病態にも、消化管ホルモンが関係しているのではないかと考えた。

Ⅲ－(2) 目的

腹部膨満や便排泄遅延などの消化管症状があり、経腸栄養が増やせない低サイロキシン血症のある早産児において、レボサイロキシン (levothyroxine sodium; T4-Na) 補充療法前の 8 種類の消化管ホルモン (leptin、GIP、GLP-1、PYY、PP、insulin、amylin、ghrelin) の血清中濃度を、消化管症状のない経腸栄養の順調な早産児と比較しその違いを明らかにする。また、T4-Na 補充療法を行った前後での甲状腺ホルモン (TSH、fT4) と消化管ホルモンの血清中濃度の変化および相互関係について明らかにする。

Ⅲ－(3) 対象と方法

① 対象とその分類

2009 年 9 月から 2011 年 3 月の間に、自治医科大学附属病院総合周産期母子医療センター新生児集中治療部に入院した在胎 31 週未満の早産児のうち、腹部膨満や便排泄遅延、胃残渣の増加などの消化管症状が出現し経腸栄養が順調に増

やせず、低サイロキシン血症と診断し、T4-Naの補充療法を行った8名を対象とした（以下、疾患群）。在胎期間に統計学的有意差がなく、消化管症状を伴わず経腸栄養が順調であった、研究Aにおけるグループ1（在胎週数31週未満の早産児）を対照（以下、対照群）として比較した。

② 除外対象

先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）や汎下垂体機能不全症などの内分泌性疾患、重症感染症、壊死性腸炎や胎便性イレウス、消化管狭窄・閉鎖症などの器質性消化管疾患と診断された症例は対象の選択から除外した。

③ レボサイロキシン（T4-Na）の補充療法の適応基準

出生後に腹部膨満、胎便排泄遅延、胃残渣の増加などの消化管症状が出現し、初期治療としてグリセリンまたはアミドトリゾ酸ナトリウムメグルミン液（ガストログラフィン[®]）希釈液による浣腸を行っても、出生後1週以降も消化管症状が改善せずに経腸栄養が増やせない早産児に対して、甲状腺機能検査を行った。その結果、(1) TSH>10 μ U/mL かつ fT4<1.0 ng/mL の場合には全例に、(2) TSH<10 μ U/mL かつ fT4<1.3 ng/mL の場合には、初期治療のみでは消化管症状が改善しない症例に、5 μ g/kg/日の量で T4-Na による補充療法を開始した¹⁹。補充療法により消化管症状と低サイロキシン血症が改善し、経腸栄養が進んだ場合には同量での投与を維持したが、2週間以上にわたって改善しなかった場合には

甲状腺機能を再評価して、前出の(1)、(2)の基準に該当する場合には T4-Na の投与量を 7~10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ の範囲で増量した。

④ 倫理的配慮

自治医科大学生命倫理委員会からの承認を得た上で本研究を行った（臨09-20、11-10）。すべての対象児の保護者に対して、本研究の目的や内容について文書を用いて説明を行った後に、研究参加への同意を文書で得た。

⑤ 検体採取方法

研究 A と同様に、8 種類の消化管ホルモンの測定に必要なすべての血液検体は、哺乳直前の空腹時である午前 6 時に、皮静脈穿刺による静脈血またはヒールカット法による混合血を 1 検体につき全血 200 μL を採取した。疾患群では、T4-Na による補充療法を開始前と、消化管症状が改善した補充療法後の 2 回、血液検体を採取した。対照群では、Ⅲ-(2)-⑤に述べたグループ 1 の採取検体のうち、出生直後と出生後 2、4 週の検査値を解析に用いた。

TSH、fT4 は、疾患群でのみ補充療法開始前と、消化管症状が改善した補充療法後に、血液検体を採取して測定を行った。

得られた血液検体は、遠心分離器 (3000rpm、10 分) により血清を分離した後、測定を行うまで -70°C のフリーザーで凍結保存した。

⑥ 消化管ホルモン、甲状腺ホルモンの測定方法

消化管ホルモンの測定は、研究 A と同様の方法を用いて、leptin、総 GIP、活性型 GLP-1、総 PYY、PP、insulin、活性型 amylin、活性型 ghrelin の 8 種類の消化管ホルモンの血清中濃度を同時に測定した。DPP-IV 阻害薬、プロテアーゼ阻害薬混合物、セリンプロテアーゼ阻害薬の採取血液への添加は行わなかった。

TSH、fT4 は、自治医科大学臨床検査部で、蛍光酵素免疫測定法（fluorescence enzyme immunoassay; FEIA）を用いて測定した。

⑦ 統計処理法

統計解析には、SSPS Statistics version 20.0.0 (IBM, Armonk, NY, USA)、Minitab version 17.1.0 for Windows (Minitab Inc., State College, PA, USA)を用いた。検出感度以下の計測データは、統計処理のため 0 pg/mL とした。解析結果は平均 ± 標準偏差で表記した。独立した 2 群間の比較については、Mann-Whitney U 検定あるいは χ^2 二乗検定を用いた。消化管ホルモンと fT4、経腸栄養量の関係は、経腸栄養量を制御変数とした偏相関を用いて解析した。p 値は 0.05 未満を統計学的に有意差ありとした。

III-(4) 結果

① 対象の特性（表 B-1）

疾患群は対照群と比較して SGA の割合が高く、出生体重、出生時身長が有意

に低値であった。疾患群では経腸栄養開始の日齢が対照群よりも有意に遅延し、日齢 14、28 における体重当たり一日経腸栄養量も有意に少なかった。

疾患群のうち 6 例では、出生後 7 日から 20 日の間に T4-Na による補充療法を開始した。残る 2 症例では、それぞれ出生後 2 か月、4 か月（どちらも出産予定日から 0 か月相当）に T4-Na 補充を開始した。T4-Na の初回投与量は全例で 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ から開始し、最大投与量の平均は 6.4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ であった。

表 B-1 : 対象の特性

	疾患群 (n=8)	対照群 (n=14)	p 値	
在胎期間 (週)	27.6±2.2	28.2±1.4	0.58	
性別 (男/女)	4/4	11/3	0.17	
SGA/AGA	5/3	1/13	0.005	
分娩様式 (経膣分娩/帝王切開)	0/8	1/13	–	
出生時体重 (g)	703.0±204.8	1115.9±220.0	0.002	
出生時身長 (cm)	32.2±3.2	37.1±2.7	0.004	
ponderal index (kg/m ³)	20.8±1.5	21.6±1.5	0.28	
Apgar スコア	1 分	4.5±2.6	5.2±2.5	0.67
	5 分	7.5±0.8	7.4±1.4	0.80
臍帯動脈血	pH	7.27±0.08	7.30±0.05	0.40
	BE	-3.6±4.2	-3.5±4.4	0.94
副腎皮質 ステロイド	母体投与	2/8	6/14	0.71
	出生後投与	1/8	0/14	–
経腸栄養の種類 (母乳/人工乳/成分栄養剤)	6/1/6	12/4/10	0.77	
経腸栄養開始の日齢 (日)	7.6±3.1	4.2±1.2	0.002	
経腸栄養量 (mL/kg/日)	日齢 14	62.9±35.1	126.3±25.5	0.001
	日齢 28	134.8±46.0	145.5±6.5	0.006

AGA: appropriate for gestational age, SGA: small for gestational age, BE: base excess.

② T4-Na 補充療法による消化管症状の改善前後における血清 TSH、fT4 値の変化 (表 B-2)

疾患群の T4-Na 補充療法前の血清 fT4 値は全例で 1.0 ng/dL 未満、血清 TSH 値は 3 症例で 10 μ U/mL 未満であった。T4-Na 補充療法開始後では、fT4 値は有意に上昇し、TSH は低下したが有意な変化ではなかった。体重当たりの一日経腸栄養量は、補充開始後に有意に増加した。

表 B-2 : 疾患群における消化管症状の改善前後の血清 TSH、fT4 値の変化

	T4-Na 補充前 (n=8)	T4-Na 補充後 (n=8)	p 値
日齢 (日) (範囲)	31.5 \pm 45.2 (7~133)	57.6 \pm 40.8 (29~146)	—
血清 free T4 (ng/dL) (範囲)	0.74 \pm 0.23 (0.41~0.99)	1.31 \pm 0.24 (1.02~1.78)	0.002
血清 TSH (μ U/mL) (範囲)	7.98 \pm 6.30 (0.86~16.70)	2.54 \pm 2.28 (0.03~7.06)	0.10
経腸栄養量 (mL/kg/日)	27.3 \pm 29.1	149.6 \pm 42.6	<0.001

T4-Na: levothyroxine sodium, TSH: thyroid-stimulating hormone, fT4: free thyroxine.

③ T4-Na 補充療法前の消化管ホルモン値

疾患群の消化管ホルモン値は T4-Na 補充療法前 5 例、補充後 5 例、うち 2 例が補充療法前後で測定できた。

T4-Na 補充療法前の消化管ホルモン値を、対照群の出生後 2 週の消化管ホルモン値と比較した (表 B-3)。2 群間で検体採取した日齢に統計学的な有意差はなかった。血清 GLP-1、GIP、PYY 値は、疾患群で有意に低値であった。血清 leptin、PP、insulin 値には両群間で有意差はなかった。

表 B-3 : 疾患群(T4-Na 補充前)と対照群(生後 2 週)の消化管ホルモン値の比較

	疾患群 T4-Na 補充前 (n=5)	対照群 生後 2 週 (n= 7)	p 値
日齢 (日) (範囲)	13.4±4.6 (7~19)	14.0±0.0 (14)	1.00
leptin	20.5±45.8	40.8±70.2	0.74
GLP-1	28.2±29.9	134.0±41.8	0.008
GIP	42.6±25.9	133.9±53.6	0.03
PYY	360.4±279.9	1037.2±87.9	0.008
PP	152.8±92.5	113.4±97.8	0.42
insulin	26.6±59.5	186.8±251.8	0.14
amylin	ND	39.9±74.4	—
ghrelin	ND	ND	—

消化管ホルモン値の単位は pg/mL.

GIP: glucose-dependent insulinotropic polypeptide, GLP-1: glucagon-like peptide-1, PYY: peptide YY, PP: pancreatic polypeptide, T4-Na: levothyroxine sodium, ND: not detected.

④ T4-Na 補充療法による血清消化管ホルモン値の変化

疾患群の T4-Na 補充療法前および補充後の血清中消化管ホルモン値を対照群の出生後 4 週と比較した (表 B-4)。T4-Na 補充療法後、血清 GIP 値は有意な上昇を認めた。血清 GLP-1、PYY 値は、補充療法前と比較して上昇していたが有意差は認めなかった。血清 GLP-1、GIP、PYY 値とも、疾患群の T4-Na 補充療法後の値と、対照群における出生後 4 週時の値に統計学的な有意差はなかった。

血清 leptin 値は、T4-Na 補充療法前後とも低値で有意差はなかった。また、補充療法後と対照群の出生後 4 週時の血清 leptin 値にも有意差は認めなかった。疾患群の血清 PP 値は、T4-Na 補充療法前後とも対照群よりやや高値であったが、統計学的有意差は認めなかった。血清 insulin は補充前後で有意差はなかった。また補充療法後の血清 insulin、amylin 値は、いずれも対照群との間に有意差はなかった。血清 ghrelin 値はすべての測定値で感度以下であった。

表 B-4 : 疾患群(T4-Na 補充前後)と対照群(生後 4 週)の消化管ホルモン値の比較

	疾患群 T4-Na 補充前 (n=5)	疾患群 T4-Na 補充後 (n=5)	対照群 生後 4 週 (n=8)	<i>p</i> 値	
				補充前 対 補充後	補充後 対 対照群
日齢 (日) (範囲)	13.4±4.6 (7~19)	29.2±9.3 (14~37)	28.0±0.0	–	–
leptin	20.5±45.8	36.6±81.8	69.4±102.8	1.00	0.61
GLP-1	28.2±29.9	64.0±78.4	125.7±50.3	0.68	0.09
GIP	42.6±25.9	155.3±85.8	222.6±95.6	0.02	0.21
PYY	360.4±279.9	791.5±246.7	880.2±111.4	0.09	0.61
PP	152.8±92.5	152.7±121.3	111.8±124.3	1.00	0.51
insulin	26.6±59.5	235.2±350.1	207.9±149.1	0.53	0.66
amylin	ND	22.4±41.2	22.8±38.8	–	1.00
ghrelin	ND	ND	ND	–	–

消化管ホルモン値の単位は pg/mL.

GIP: glucose-dependent insulinotropic polypeptide, GLP-1: glucagon-like peptide-1, PYY: peptide YY, PP: pancreatic polypeptide, T4-Na: levothyroxine sodium, ND: not detected.

⑤ fT4 値と消化管ホルモン値の相関

疾患群の T4-Na 補充療法前後の 10 検体で、経腸栄養量を制御因子として、fT4 値と血清消化管ホルモン値の偏相関を解析した (表 B-5)。統計学的に有意ではなかったが、血清 GIP 値と fT4 値との間に最も係数の大きい正の相関を認めた。

表 B-5 : 疾患群 8 例の T4-Na 補充前後の 10 検体における fT4 値と消化管ホルモン値の偏相関

	偏相関 係数	<i>p</i> 値
leptin	-0.239	0.54
GLP-1	0.188	0.63
GIP	0.548	0.13
PYY	0.442	0.23
PP	0.300	0.94
insulin	0.147	0.71
amylin	—	—
ghrelin	—	—

経腸栄養量を制御変数とした。

T4-Na: levothyroxine sodium, fT4: free thyroxine, GIP: glucose-dependent insulinotropic polypeptide, GLP-1: glucagon-like peptide-1, PYY: peptide YY, PP: pancreatic polypeptide

III-(5) 考察

消化管症状を呈した低サイロキシシン血症のある早産児では、対照と比較し、測定した消化管ホルモンのうち血清 GIP、GLP-1、PYY の低値を認め、T4-Na の補充療法後に、これらの消化管ホルモン値は上昇した。中でも、血清 GIP は T4-Na 補充前後で有意に上昇し、補充後は対照群の出生後 4 週との値と同レベルとなった。

これら 3 つの消化管ホルモンはいずれも摂食行動や消化管運動を抑制する作用を持つため、T4-Na 補充後に上昇したことは、摂食や消化管運動が改善したことと一見矛盾するように見える。しかし、甲状腺機能亢進症の小児における空

腹時の血清 GLP-1 値は有意に上昇しているとの報告があり、甲状腺ホルモンと GLP-1 の正の相関性が示唆されている⁵⁶。その一方で、甲状腺機能低下症の成人では、T4-Na の補充治療前後で空腹時の血漿 PYY 値に有意な変化はなかったとの報告もある⁵⁷。研究 A では、消化管症状のない経腸栄養の順調な早産児において、出生後 1 か月以内に GLP-1、GIP、PYY は成人よりも高い値まで上昇していたことから、T4-Na 補充によりこれらの消化管ホルモンの生理的上昇を促したと考えられた。

GIP、GLP-1 は膵島 β 細胞の分化・増殖に重要な役割を担っており^{58,59}、早産児でも空腹時の血清 GLP-1 が高値であることは、膵島細胞の分化・成熟を促すことが示唆されている⁴⁰。また GLP-1 は、消化管 L 細胞から共分泌される GLP-2 と同様に、消化管組織の損傷回復や成熟を促進する働きも持つと考えられている^{40,60}。消化管の機能性疾患の一つであるヒルシュスプルング病では、神経節細胞の脱落した腸管粘膜では PYY 産生細胞が減少していたとの報告もある⁶¹。これらのことから、早産児では、出生後の経腸栄養の下で起きる消化管ホルモンの上昇が、出生後の消化管の蠕動運動や消化吸収能、エネルギー代謝の成熟を促して、経腸栄養の子宮外環境への適応を円滑に進めていると推測される⁶²。早産児の低サイロキシン血症では、これらの消化管ホルモンの生理的上昇が抑制された状態にあり、消化管ホルモンの低値と消化管症状の関連が示唆された。

一方、経腸栄養が順調に進まないことが消化管ホルモンの上昇を抑制しているとも考えられた。

そこで、経腸栄養量を調整した fT4 と消化管ホルモンの相関関係を検討したところ、偏相関係数は、GIP で 0.548 と最も強い正の相関を示したが、統計学的には有意ではなかった。研究 A で述べたとおり、経腸栄養の増加が血清 GLP-1、GIP、PYY の出生後の上昇に関わると考えると、疾患群における T4-Na 補充前後での血清 GLP-1、GIP、PYY 値の上昇に、fT4 と経腸栄養量のどちらがより強く影響を与えたのか、今回の結果のみで説明することは困難であった。

Leptin と甲状腺機能の関係について、Rosenbaum らは leptin が甲状腺ろ胞からの T4 分泌を直接刺激し、TSH の生理活性を増強すると推測している⁶³。一方で、Oweki らは甲状腺機能低下症のある成人女性で、血清 leptin 値に一定の傾向を認めなかった⁶⁴。思春期の神経性食思不振症患者では、体脂肪の減少が leptin 低下に関与すると考えられているが、TSH は概ね正常であり、T3 値は低値かつ fT4 値は正常か低い傾向にある⁶⁵。このように、この 2 つのホルモンの相互関係は今のところ明確ではない。本研究の疾患群での血清 leptin 値は、T4-Na 補充前には低値であり、TSH は軽度の高値か正常範囲であり神経性食思不振症の場合と類似した。これは経腸栄養が進まない状況下における低栄養状態を反映していると考えられ、TSH 上昇を伴わない早産児の低サイロキシン血症は、消耗性疾患

などの重篤な疾患の下でエネルギー需要が低下し、異化作用の抑制された

「non-thyroidal illness」であるとの考えと一致する。しかし、脂肪細胞の少ない新生児期を反映して対照群の血清 leptin も低値であること、疾患群で T4-Na 補充後も leptin 値の有意な上昇を認めなかったことから、早産児における低サイロキシン血症と低 leptin 血症との関係については今後も検討を重ねる必要がある。

血清 PP と甲状腺ホルモンとの相互関係については、これまでに報告はなされていない。PP は胃内流入または胃外排泄を抑制する⁶⁶ため、早産児においては胃残渣の増加などへの関与が考えられるが、本研究での疾患群の血清 PP 値は、T4-Na 補充前後あるいは対照群との間に有意差はなく、成人の空腹時正常値とほぼ同レベルであり⁴⁴、また低サイロキシン血症との関係は認められず、早産児の消化管症状への影響は明らかにできなかった。

以上から消化管症状を伴う低サイロキシン血症を持つ早産児では、一部の消化管ホルモンが低値であること、これらの消化管ホルモンが甲状腺ホルモンの補充によって消化管症状のない早産児と同程度まで上昇し、消化管における消化・吸収、運動機能、エネルギー代謝の成熟を促していることが示唆された。

IV 本研究の限界

本研究の限界は、第一に研究 A、B とも対象数が少なく、また経時的に採取できた検体数も少ないため、消化管ホルモンの在胎期間別の生後変化、T4-Na 補充前後の fT4 値と消化管ホルモン値の偏相関の統計学的検討に限界があった可能性がある。第二に、早産児で消化管症状がない、あるいは T4-Na 補充により消失後は、摂食抑制因子である GLP-1、GIP、PYY が高値であったが、摂食調節のバランスが亢進・抑制のどちらにあるのかは、中枢側の摂食調整ペプチドを解析していないため評価できなかった。さらに唯一の末梢性摂食亢進因子である ghrelin はすべての測定検体で感度以下であったため、末梢側からみた摂食調節についても全体像は掴めなかった。

研究 A では、正期産児の症例が少なく、消化管ホルモンの生後変化が解析できなかったため、早産児でみられた消化管ホルモンの特徴的な生後変化が、早産児特有なのか、正期産児にも共通してみられる現象なのかを解明できなかった。研究 B では、対照群と比較して疾患群で SGA 児が有意に多く含まれていた。新生児期から成人期までを通じて、SGA 児と AGA 児では内分泌系のプロファイルが異なると推測され⁶⁷⁻⁶⁹、解析結果に影響を与えた可能性は否定できなかった。体格的特徴に有意差のない症例での再検討が必要であるが、消化管症状を伴う低サイロキシン血症の発症自体が SGA の早産児に多いとの見方もできる。SGA

児と AGA 児の内分泌的背景および消化管ホルモンのプロファイルの違いについての更なる検討が必要と考えられた。

V おわりに

研究 A により、早産児の在胎期間が、出生時の消化管ホルモンのレベルに影響し、出生後には経腸栄養の開始や増量などの生理的な変化に適応すべく、消化管ホルモンレベルの変化が認められることが明らかとなった。

研究 B により、GIP、GLP-1、PYY の消化管ホルモンの分泌低下が、低サイロキシン血症のある早産児の消化管症状に関係していると考えた。T4-Na の補充後には、対照群と同レベルに増加した。出生後に起こるこれらの消化管ホルモンの分泌増加が、甲状腺ホルモンと連動して、早産児の消化管機能、エネルギー代謝機能を成熟させる役割を持つ可能性があると考えた。

この 2 つの研究から、早産児では、摂食行動や消化管機能の抑制に作用する GLP-1、GIP、PYY の 3 種の消化管ホルモンが、① 新生児期に特有な頻回の経腸栄養によって、出生後に成人値を上回る分泌がなされること、② 消化管機能、エネルギー代謝機能を成熟させることにより、経腸栄養を増量でき、消化・代謝器官の子宮外適応を促すサイクル(図 E)が確立されるのではないかと考えた。甲状腺ホルモンの補充はこれらに作用して、3 つの消化管ホルモンの分泌と消化

管・代謝機能の成熟が相互に促し合うことで、低サイロキシン血症を持つ早産

児では消化管症状が改善されるのではないかと推測した。

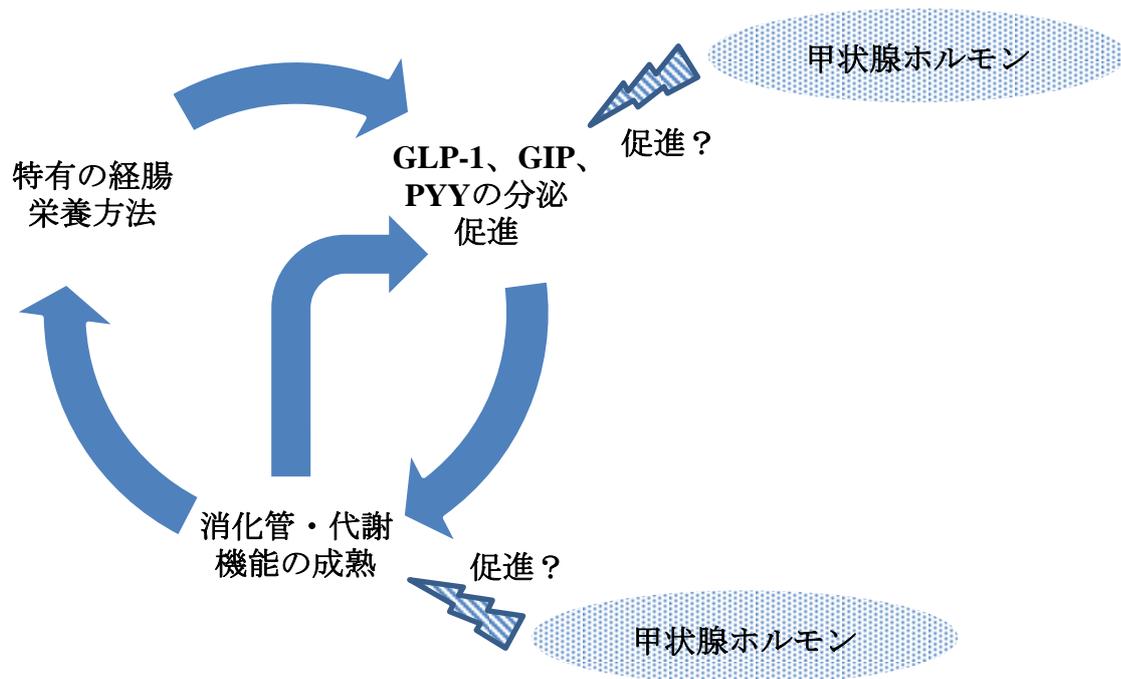


図 E：早産児における出生後の消化管・代謝機能の子宮外適応のサイクルモデル

VI 参考文献

- 1) Sam AH, Troke RC, Tan TM, Bewick GA. The role of the gut/brain axis in modulating food intake. *Neuropharmacology*. 63 : 46-56、 2012
- 2) Sobrino CC, Perianes CA, Puebla JL, Barrios V, Arilla FE. Peptides and food intake. *Front Endocrinol (Lausanne)* 24 : 58、 2014;
- 3) Small CJ, Bloom SR. Gut hormones and the control of appetite. *Trends Endocrinol Metab* 15 : 259-63、 2004
- 4) Bewick GA, Kent A, Campbell D, Patterson M, Ghatei MA, Bloom SR, Gardiner JV. Mice with hyperghrelinemia are hyperphagic and glucose intolerant and have reduced leptin sensitivity. *Diabetes* 58 : 840-6、 2009
- 5) Turton MD, O'Shea D, Gunn I, Beak SA, Edwards CM, Meeran K, Choi SJ, Taylor GM, Heath MM, Lambert PD, Wilding JP, Smith DM, Ghatei MA, Herbert J, Bloom SR. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature* 379: 69-72、 1996
- 6) Nauck MA, Niedereichholz U, Ettlner R, Holst JJ, Orskov C, Ritzel R, Schmiegel WH. Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. *Am J Physiol* 273 : E981-8、 1997
- 7) Koda S, Date Y, Murakami N, Shimbara T, Hanada T, Toshinai K, Nijijima A, Furuya

- M, Inomata N, Osuye K, Nakazato M. The role of the vagal nerve in peripheral PYY3-36-induced feeding reduction in rats. *Endocrinology* 146 : 2369-75、 2005
- 8) Batterham RL, Le Roux CW, Cohen MA, Park AJ, Ellis SM, Patterson M, Frost GS, Ghatei MA, Bloom SR. Pancreatic polypeptide reduces appetite and food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 88 : 3989-92、 2003
- 9) Wauters M, Considine RV, Van Gaal LF. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol* 143 : 293-311、 2000
- 10) Xu AW, Kaelin CB, Takeda K, Akira S, Schwartz MW, Barsh GS. PI3K integrates the action of insulin and leptin on hypothalamic neurons. *J Clin Invest* 115 : 951-8、 2005
- 11) Chance WT, Balasubramaniam A, Stallion A, Fischer JE. Anorexia following the systemic injection of amylin. *Brain Res* 607 : 185-8、 1993
- 12) Kairamkonda VR, Deorukhkar A, Bruce C, Coombs R, Fraser R, Mayer AP. Amylin peptide is increased in preterm neonates with feed intolerance. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 93 : F265-70、 2008
- 13) Rossi M, Kim MS, Morgan DG, Small CJ, Edwards CM, Sunter D, Abusnana S, Goldstone AP, Russell SH, Stanley SA, Smith DM, Yagaloff K, Ghatei MA, Bloom SR. A C-terminal fragment of Agouti-related protein increases feeding and

antagonizes the effect of alpha-melanocyte stimulating hormone in vivo.

Endocrinology 139 : 4428-31、 1998

14) Elias CF, Lee C, Kelly J, Aschkenasi C, Ahima RS, Couceyro PR, Kuhar MJ, Saper

CB, Elmquist JK. Leptin activates hypothalamic CART neurons projecting to the

spinal cord. *Neuron* 21 : 1375-85、 1998

15) Siahanidou T, Mandyla H, Militsi H, Papassotiriou I, Chrousos G. Peptide YY

(3-36) represents a high percentage of total PYY immunoreactivity in preterm and

full-term infants and correlates independently with markers of adiposity and serum

ghrelin concentrations. *Pediatr Res* 62 : 200-3、 2007

16) Omari TI, Barnett C, Snel A, Goldsworthy W, Haslam R, Davidson G, Kirubakaran

C, Bakewell M, Fraser R, Dent J. Mechanisms of gastroesophageal reflux in healthy

premature infants. *J Pediatr* 133 : 650-4、 1998

17) Siddiqui MM, Drewett M, Burge DM. Meconium obstruction of prematurity. *Arch*

Dis Child Fetal Neonatal Ed 97 : F147-50、 2012

18) Georgieff MK. Nutrition and the developing brain: nutrient priorities and

measurement. *Am J Clin Nutr* 85 : 614S-620S、 2007

19) Komiyama M, Takahashi N, Yada Y et al. Hypothyroxinemia and effectiveness of

thyroxin supplementation in very low birth weight infants with abdominal distention

- and poor weight gain. *Early Hum Dev* 85 : 267–70、 2009
- 20) Upchurch BH, Aponte GW, Leiter AB. Expression of peptide YY in all four islet cell types in the developing mouse pancreas suggests a common peptide YY-producing progenitor. *Development* 120 : 245-52、 1994
- 21) Myrsen-Axcrona U, Ekblad E, Sundler F. Developmental expression of NPY, PPY and PP in the rat pancreas and their coexistence with islet hormones. *Regul Pept* 68 : 165-75、 1997
- 22) Warchoń M, Krauss H, Wojciechowska M, Opala T, Pięta B, Żukiewicz-Sobczak W, Kupsz J, Grochowalska A. The role of ghrelin, leptin and insulin in foetal development. *Ann Agric Environ Med* 21 : 349-52、 2014
- 23) Detel D, Baticic L, Varljen J. The influence of age on intestinal dipeptidyl peptidase IV (DPP IV/CD26), disaccharidases and alkaline phosphatase enzyme activity in C57BL/6 mice. *Exp aging res* 34 : 49-62、 2008
- 24) Matsuda J, Yokota I, Iida M, Murakami T, Yamada M, Saijo T, Naito E, Ito M, Shima K, Kuroda Y. Dynamic changes in serum leptin concentrations during the fetal and neonatal periods. *Pediatr Res* 45 : 71-5、 1999
- 25) Hodge G, Hodge S, Haslam R, McPhee A, Sepulveda H, Morgan E, Nicholson I, Zola H. Rapid simultaneous measurement of multiple cytokines using 100 microl

- sample volumes--association with neonatal sepsis. *Clin Exp Immunol* 137 : 402-7, 2004
- 26) Milliplex™ MAP, http://www.millipore.com/drugdiscovery/dd3/map_portfolio
- 27) Cetin I, Morpurgo PS, Radaelli T, Taricco E, Cortelazzi D, Bellotti M, Pardi G, Beck-Peccoz P. Fetal plasma leptin concentrations: relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. *Pediatr Res* 48 : 646-51, 2000
- 28) Karakosta P, Chatzi L, Plana E, Margioris A, Castanas E, Kogevinas M. Leptin levels in cord blood and anthropometric measures at birth: a systematic review and meta-analysis. *Paediatr Perinat Epidemiol* 25 : 150-63, 2011
- 29) Hauguel-de Mouzon S, Guerre-Millo M. The placenta cytokine network and inflammatory signals. *Placenta* 27 : 794-8, 2006
- 30) Linnemann K, Malek A, Sager R, Blum WF, Schneider H, Fusch C. Leptin production and release in the dually in vitro perfused human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 85 : 4298-301, 2000
- 31) Gomez L, Carrascosa A, Yeste D, Potau N, Rique S, Ruiz-Cuevas P, Almar J. Leptin values in placental cord blood of human newborn with normal intrauterine growth after 30-42 weeks of gestation. *Horm Res* 51 : 10-4, 1999
- 32) Kieffer TJ, McIntosh CH, Pederson RA. Degradation of glucose-dependent

- insulinotropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide 1 in vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Endocrinology* 136 : 3585-96, 1995
- 33) Padidela R, Patterson M, Sharief N, Ghatei M, Hussain K. Elevated basal and post-feed glucagon-like peptide 1 (GLP-1) concentrations in the neonatal period. *Eur J Endocrinol* 160 : 53-8, 2009
- 34) Orskov C, Rabenhøj L, Wettergren A, Kofod H, Holst JJ. Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagon-like peptide I in humans. *Diabetes* 43 : 535-9, 1994
- 35) Adrian TE, Smith HA, Calvert SA, Aynsley-Green A, Bloom SR. Elevated plasma peptide YY in human neonates and infants. *Pediatr Res* 20 : 1225-27, 1986
- 36) Ahima RS, Prabakaran D, Flier JS. Postnatal leptin surge and regulation of circadian rhythm of leptin by feeding. Implications for energy homeostasis and neuroendocrine function. *J Clin Invest* 101 : 1020-7, 1998
- 37) Attig L, Larcher T, Gertler A, Abdennebi-Najar L, Djiane J. Postnatal leptin is necessary for maturation of numerous organs in newborn rats. *Organogenesis* 7 : 88-94, 2011
- 38) Bouret SG, Draper SJ, Simerly RB. Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. *Science* 304 : 108-10, 2004

- 39) Muscelli E, Mari A, Natali A, Astiarraga BD, Camastra S, Frascerra S, Holst JJ, Ferrannini E. Impact of incretin hormones on beta-cell function in subjects with normal or impaired glucose tolerance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291 : E1144-50, 2006
- 40) Amin H, Holst JJ, Hartmann B, Wallace L, Wright J, Sigalet DL. Functional ontogeny of the proglucagon-derived peptide axis in the premature human neonate. *Pediatrics* 121 : e180-6, 2008
- 41) Berseth CL, Nordyke CK, Valdes MG, Furlow BL, Go VL. Responses of gastrointestinal peptides and motor activity to milk and water feedings in preterm and term infants. *Pediatr Res* 31 : 587-90, 1992
- 42) Cahill F, Shea JL, Randell E, Vasdev S, Sun G. Serum peptide YY in response to short-term overfeeding in young men. *Am J Clin Nutr* 93 : 741-7, 2011
- 43) Forbes SC, Cox HM. Peptide YY, neuropeptide Y and corticotrophin-releasing factor modulate gastrointestinal motility and food intake during acute stress. *Neurogastroenterol Motil* 26 : 1605-14, 2014
- 44) Hanukoglu A, Chalew S, Kowarski AA. Human pancreatic polypeptide in children and young adults. *Horm Metab Res* 22 : 41-3, 1990
- 45) van Wassenae AG, Kok JH, Dekker FW, de Vijlder JJ. Thyroid function in very

- preterm infants: influences of gestational age and disease. *Pediatr Res* 42 : 604–9、
1997
- 46) Williams FL, Visser TJ, Hume R. Transient hypothyroxinaemia in preterm infants.
Early Hum Devel 82 : 797–802、 2006
- 47) Paul DA, Leef KH, Stefano JL, Bartoshesky L. Low serum thyroxine on initial
newborn screening is associated with intraventricular hemorrhage and death in very
low birth weight infants. *Pediatrics* 101 : 903–7、 1998
- 48) Biswas S, Buffery J, Enoch H, Bland JM, Walters D, Markiewicz M. A longitudinal
assessment of thyroid hormone concentrations in preterm infants younger than 30
weeks' gestation during the first 2 weeks of life and their relationship to outcome.
Pediatrics 109 : 222–7、 2002
- 49) Osborn DA. Thyroid hormones for preventing neurodevelopmental impairment in
preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 4 : CD001070、 2001
- 50) Dhillon WS. Appetite regulation: an overview. *Thyroid* 17 : 433–45、 2007
- 51) Ishii S, Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Sugihara H, Oikawa S. Triiodothyronine
(T3) stimulates food intake via enhanced hypothalamic AMP-activated kinase
activity. *Regul Pept* 151 : 164-9、 2008
- 52) Yaylali O, Kirac S, Yilmaz M et al. Does hypothyroidism affect gastrointestinal

- motility? *Gastroenterol Res Pract* 2009 : 529802、 2009
- 53) Kahraman H, Kaya N, Demirçali A, Bernay I, Tanyeri F. Gastric emptying time in patients with primary hypothyroidism. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 9 : 901–4、 1997
- 54) Oliveira KJ, Paula GS, Costa-e-Sousa RH, Souza LL, Moraes DC, Curty FH, Pazos-Moura CC. Peptide YY (PYY)₃₋₃₆ modulates thyrotropin secretion in rats. *J Endocrinol* 191 : 459-63、 2006
- 55) Emami A, Nazem R, Hedayati M. Is association between thyroid hormones and gut peptides, ghrelin and obestatin, able to suggest new regulatory relation between the HPT axis and gut? *Regul Pept* 189 : 17-21、 2014
- 56) Cheng JP, Yue HN, Ma SG, Jin Y, Xu W, Bai F. Fasting glucagon-like peptide-1 in patients with overt hyperthyroidism and euthyroid congenital hypothyroidism. *J Pediatr Endocrinol Metab* 26 : 1029–33、 2013
- 57) Manuchehri AM, Sathyapalan T, Jayagopal V et al. Alterations in thyroid status do not affect plasma peptide YY (PYY) and ghrelin concentrations. *Clin Endocrinol (Oxf)* 68 : 836–8、 2008
- 58) Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 132 : 2131-57、 2007
- 59) List JF, Habener JF. Glucagon-like peptide 1 agonists and the development and

- growth of pancreatic beta-cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286:E875-81, 2004
- 60) Kissow H, Hartmann B, Holst JJ, Poulsen SS. Glucagon-like peptide-1 as a treatment for chemotherapy-induced mucositis. *Gut* 62 : 1724-33, 2013
- 61) Soeda J, O'Briain DS, Puri P. Mucosal neuroendocrine cell abnormalities in the colon of patients with Hirschsprung's disease. *J Pediatr Surg* 27 : 823-7, 1992
- 62) Lucas A, Bloom SR, Aynsley-Green A. Postnatal surges in plasma gut hormones in term and preterm infants. *Biol Neonate* 41 : 63-7, 1982
- 63) Rosenbaum M, Goldsmith R, Bloomfield D et al. Low-dose leptin reverses skeletal muscle, autonomic, and neuroendocrine adaptations to maintenance of reduced weight. *J Clin Invest* 115 : 3579-86, 2005
- 64) Owecki M, El Ali Z, Wasko R et al. Circulating leptin levels are not influenced by thyroid status in hypothyroid and euthyroid women. *Neuro Endocrinol Lett* 28 : 417-21, 2007
- 65) Misra M, Klibanski A. Neuroendocrine consequences of anorexia nervosa in adolescents. *Endocr Dev* 17 : 197-214, 2010
- 66) Verschueren S, Jassen P, Van Oudenhove L, Hultin L, Task JF. The effect of pancreatic polypeptide on gastric accommodation and gastric emptying in conscious rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* e-pub ahead of print 17 Apr 2014; doi:

10.1152/ajpgi.00043.2014、 2014

- 67) Franco B, Laura F, Sara N, Salvatore G. Thyroid function in small for gestational age newborns: a review. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 5 : 2-7、 2013
- 68) Lem AJ, van der Kaay DC, de Ridder MA, Bakker-van Waarde WM, van der Hulst FJ, Mulder JC, Noordam C, Odink RJ, Oostdijk W, Schroor EJ, Sulkers EJ, Westerlaken C, Hokken-Koelega AC. Adult height in short children born SGA treated with growth hormone and gonadotropin releasing hormone analog: results of a randomized, dose-response GH trial. *J Clin Endocrinol Metab* 97 : 4096-105、 2012
- 69) Kistner A, Vanpée M, Hall K. Leptin may enhance hepatic insulin sensitivity in children and women born small for gestational age. *Endocr Connect* 2 : 38-49、 2013

VII 謝辞

研究テーマを与えて頂き、日ごろから熱心にご指導くださいました高橋尚人先生、また検体収集や測定にご協力頂いた自治医科大学新生児集中治療部の皆様に深謝致します。