

学位論文（博士）

Interleukin-33 and Soluble ST2 Levels in Infants
with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy

（新生児低酸素性虚血性脳症における
インターロイキン-33 及び可溶性 ST2 濃度の検討）

氏名 濱野 弘樹

所属 山口大学大学院医学系研究科
医学専攻 小児科学講座

令和5年6月

目次

1. 要旨.....	3
2. 研究の背景.....	4
3. 目的.....	5
4. 方法.....	6
4.1. 対象.....	6
4.2. 血清中 IL-33 および sST2 濃度の測定.....	6
4.3. 神経発達評価.....	7
4.4. ¹ H-MRS.....	7
4.5. 統計解析.....	7
5. 結果.....	8
5.1. 患者と臨床的特徴.....	8
5.2. 血清 IL-33 濃度.....	9
5.3. 血清 sST2 濃度は HIE の重症度に応じて上昇する.....	9
5.4. 血清 sST2 濃度と退院後の神経学的予後との関係.....	10
5.5. HIE 児における sST2 と LAC/NAA 比の関係.....	10
6. 考察.....	10
7. 結語.....	14
8. 謝辞.....	14
9. 参考文献.....	15

1. 要旨

【背景】インターロイキン (IL)-33 は、宿主防御、神経損傷、炎症などに重要な IL-33/ST2 シグナル経路を誘導する。一方、IL-33 のデコイ受容体である可溶性 ST2 (sST2) は、IL-33/ST2 シグナル経路を抑制する。sST2 は種々の神経疾患患者の血清中で増加するが、低酸素性虚血性脳症 (Hypoxic-ischemic encephalopathy; HIE) では知られていない。

【目的】本研究の目的は、HIE における血清中の IL-33、及び sST2 濃度を測定し、HIE 重症度と神経学的予後との関連性を検討することである。

【対象と方法】2017 年 1 月から 2022 年 4 月の期間に、山口大学医学部附属病院総合周産期母子医療センターに入院した、在胎期間 36 週以上、かつ出生体重 1,800 g 以上の新生児を対象とし、HIE 群 23 名、対照群 16 名を本研究に登録した。HIE の重症度は Sarnat 分類により軽症、中等症、重症に分類し、生後 6 時間以内、及び 1-2, 3, 7 日目の血清 IL-33 及び sST2 濃度を測定した。プロトン磁気共鳴スペクトロスコピーにより HIE 群の基底核における lactate/N-acetylaspartate (Lac/NAA) 比を算出し、退院後の神経学的後遺症の有無を追跡調査した。

【結果】血清中 IL-33 濃度は各群で差を認めなかった。一方、中等症及び重症 HIE 群の血清 sST2 濃度は、対照群に比し著明に高値で、HIE 重症度と相関して高値であった。血清中 sST2 濃度は Lac/NAA 比と有意な正の相関を示し (相関係数 = 0.527, $P = 0.024$)、神経学的後遺症を来した HIE 児では予後良好の児に比し、sST2 濃度及び Lac/NAA 比が有意に高かった (それぞれ $P = 0.020$, <0.001)。

【結論】血清 sST2 濃度は HIE の重症度および神経学的予後予測に有用である可能性が

示唆された.

2. 研究の背景

新生児低酸素性虚血性脳症 (Hypoxic-ischemic encephalopathy; HIE) は、出生前後の児の低酸素・脳虚血により脳代謝が破綻し、脳機能障害を来す状態で、小児の神経発達障害の主要な原因の一つである (1). HIE の診断や重症度分類は、血液ガス分析による児の低酸素虚血障害の評価, Apgar スコア, 脳症を示唆する臨床症状など、様々な情報から総合的に判断する必要がある. 中等症から重症の HIE 児では、脳損傷によって意識障害や異常反射, 吸啜の低下や消失, けいれんなどの臨床症状を呈し (2, 3), これらの項目から重症度を判断する Sarnat 分類が HIE の重症度分類に広く用いられているが (4), 客観性に乏しいという問題点がある. また, 低体温療法は, 中等症から重症の HIE 児の生存率と神経発達を改善する, 現在唯一 HIE に対して有効な治療法である (5). しかし, 鎮静や低体温療法自体の影響から, 急性期にその効果を評価することは難しい (6).

磁気共鳴画像 (Magnetic resonance imaging; MRI) とプロトン磁気共鳴スペクトロスコピー ($^1\text{H-MR Spectroscopy}$; $^1\text{H-MRS}$) は, 低体温療法後の児の神経発達の予後予測に用いられてきた. 特に, $^1\text{H-MRS}$ から求められる乳酸/N-アセチルアスパラギン酸 (Lactate/N-acetylaspartate; Lac/NAA) 比は, 仮死で出生した児の予後と良い相関関係を示すことが知られる (7). その他のバイオマーカーとして, 神経細胞の骨格構造の維持および軸索内輸送を担う微小管関連蛋白質である Tau 蛋白質などが, 新生児 HIE の予後予測因子となりうる

(8). また、炎症性サイトカインであるインターロイキン (IL)-6 や IL-10 が脳損傷を受けた HIE 児において上昇し、有害事象とも相関することが報告されている (9).

IL-33 は IL-1 ファミリーに属するサイトカインの一つで、ヘテロ二量体受容体である ST2 を受容体とし、ST2 は、膜貫通型受容体である ST2L と、可溶性受容体である sST2 の 2 つの形態で存在する (10). IL-33/ST2 シグナル伝達経路を担う IL-33 と ST2 は、中枢神経系で豊富に発現している (11). IL-33 は、細胞の壊死により核内から細胞外へと放出される核内蛋白質で (12), 虚血脳における IL-33/ST2L 経路の活性化は、神経保護効果を示すことがげっ歯類での HIE モデルで示されている (13). 一方, sST2 はデコイ受容体として働き, IL-33 の機能を抑制する (10). sST2 は、アルツハイマー病や脳卒中、頭部外傷などの神経疾患患者において上昇しているが (11, 14), HIE 児における IL-33 および sST2 の値に関する臨床的研究は未だ存在しない.

3. 目的

本研究では、神経保護作用が期待される IL-33 とそのデコイ受容体である sST2 について、① HIE 児の血清中 IL-33 および sST2 濃度が、対照群と比較し、HIE の重症度に応じて上昇する、② sST2 濃度が高値の HIE 児ほど神経学的転帰が悪化する、との二つの仮説を立て、HIE の重症度判定や予後予測のためのバイオマーカーとしての血中 IL-33 及び sST2 の有用性を検討することを目的とした.

4. 方法

4.1. 対象

2017年1月から2022年4月の期間に山口大学医学部附属病院総合周産期母子医療センターに入院した児を対象とし、単施設後ろ向きコホート研究を行った。本研究はヘルシンキ宣言に基づき実施した。書面での同意を家族から取得し、山口大学医学部附属病院人医学研究等倫理審査委員会の承認を得た [H2022-062]。診療録から臨床情報及び検査所見を調査した。

患者選択基準は、在胎期間36週以上、出生体重1,800g以上とし、除外基準は染色体異常、先天性心疾患、大奇形、および保存検体と臨床情報の不備のある場合とした。HIEの重症度は、Sarnat分類によって軽症、中等症、および重症に分類した。Apgarスコア10分値が5点以下、pH 7.0未満、Base deficit 16 mmol/L以上、あるいは蘇生に10分以上を要した場合を低酸素曝露の根拠とした。中等症及び重症HIE児については、重症HIEの1名を除き、生後6時間以内に低体温療法を開始した。低体温療法は、Arctic Sun™ 5000 (Medivance Inc., Louisville, CO, USA) を用い、冷却ゲルパッド上に児を静置し、食道温を33.5°Cに設定し72時間冷却し、その後6時間以上かけて復温した。早産、低出生体重、呼吸障害あるいは低血糖で入院した児のうち、HIEや仮死のない児を対照群とした。

4.2. 血清中IL-33およびsST2濃度の測定

血液検体は、低体温療法開始前である生後6時間以内、低体温療法中である生後1-2日

目、低体温療法終了後の生後3日目、寛解期である生後7日目に採取した。検体採取の平均時間を表1に示す。検体は室温、 $2,000 \times g$ で5分間遠心後、上清を血清として -80°C で凍結保存した。血清中IL-33及びsST2濃度の測定には、Human IL-33およびHuman ST2/IL33R QuantikineTM enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)を用いた。検出限界はIL-33とsST2それぞれ0.357 pg/mL, 5.1 pg/mLであった。

4.3. 神経発達評価

生後12から48か月の間にHIE児の神経発達を評価した。脳性麻痺、重度の筋緊張低下、精神運動発達遅滞、あるいは抗てんかん薬を要するけいれんを有する場合を神経学的後遺症ありと定義した。

4.4. ^1H -MRS

軽症から重症のHIE児について、生後4-6日及び/あるいは10-14日に基底核の ^1H -MRSを実施した。 ^1H -MRSには3.0-T clinical MR scanner (MAGNETOM Prisma; Siemens Healthineers, Erlangen, Germany)を用いた。 ^1H -MRSのデータ収集はSingle voxel法を用い、データ収集条件は20 m秒/2,000 m秒/80 (echo time /repetition time/excitations)とし、基底核での撮像領域は $20 \times 20 \times 20$ mmとした。LacおよびNAAのピーク積算値から、Lac/NAA比を算出した。

4.5. 統計解析

各データは中央値と四分位範囲で記載した。測定値が検出限界以下の場合は、検出限界

の 2 分の 1 の値を測定値として用いた。各群間の臨床的特徴、合併症、IL-33 および sST2 濃度については、Kruskal-Wallis 検定後の Dunn 検定または Bonferroni 補正による Fisher の正確検定を用いた。sST2 と HIE 重症度との相関関係については、分散分析後の線形回帰分析を用いた。sST2 濃度、Lac/NAA 比と神経学的予後との関係性については、Wilcoxon rank-sum 検定を用いた。sST2 と Lac/NAA 比との相関関係については、Kendall の順位相関係数を用いた。神経学的予後予測因子としての sST2 濃度について、receiver operating characteristic (ROC) 曲線から曲線下面積 (Area under the curve, AUC)、sST2 の cut-off 値、感度、特異度、陽性的中率、及び陰性的中率を求めた。統計解析には JMP Pro version 15.0.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用い、 $P < 0.05$ を統計学的有意とした。

5. 結果

5.1. 患者と臨床的特徴

HIE 群は 23 名、対照群は 16 名であった (図 1)。対照群の入院例は、呼吸障害 (62.5%)、低出生体重 (37.5%)、低血糖 (31.3%)、及び早産 (25.0%) の内訳であった。母児の入院中の臨床的特徴を表 2 に、各群における平均 Apgar スコアを表 3 に示す。母体においては、中等症 HIE 群において有意に胎児機能不全が多かったが ($P = 0.003$)、年齢、経妊数、経膾分娩、緊急帝王切開および子宮破裂については有意な差を認めなかった。児においては、中等症および重症 HIE 群において、Apgar スコアが低く、挿管率や 10 分時点で蘇生を要した割合が高く、臍帯血 pH が低く、Base deficit は高かった。

児の特徴と合併症を表 4 に示す. 中等症 HIE 群については全例に, 重症 HIE 群については 5 名中 4 名に低体温療法を行った. 重症 HIE 群のうち 1 名は, 生後 6 時間を超えての入院であったことから, 低体温療法は実施できなかった. 中等症及び重症 HIE 群では入院期間が長く, 酸素の投与率と使用期間, 人工呼吸器の使用率と管理期間, 及び full feeding に達する期間が長い傾向があった. 重症 HIE 群において, けいれんや脳性麻痺などの神経学的合併症を有する割合が高かった.

5.2. 血清 IL-33 濃度

軽症から重症 HIE 児の血清 IL-33 濃度を図 2 に示す. 生後 6 時間以内の血清 IL-33 濃度は, 対照群と各 HIE 群との間に有意な差を認めなかった. また, 生後 1-2 日目においては, 殆どの患者で IL-33 濃度は検出限界以下であった.

5.3. 血清 sST2 濃度は HIE の重症度に応じて上昇する

各時点の血清 sST2 濃度を図 3 に示す. 生後 1-2 日目及び 3 日目の血清 sST2 濃度は, 中等症及び重症 HIE 群で著明に上昇し, 生後 7 日目には基底値にまで低下していた. 生後 6 時間以内及び生後 7 日目における血清 sST2 濃度は, 中等症 HIE 群では有意に高値であったが (生後 6 時間以内; $P = 0.036$, 生後 7 日; $P = 0.003$), 生後 1-2 日目及び 3 日目の値に比し, 全ての群で sST2 濃度は低値であった. 線形回帰分析結果において, sST2 濃度と HIE の重症度との間に有意な正の相関を認めた ($R^2 = 0.683$, 95% 信頼区間 149.5-283.4, $P < 0.001$) (表 5).

5.4. 血清 sST2 濃度と退院後の神経学的予後との関係

退院後のフォローアップ期間中に、中等症 HIE 群 13 名中 2 名および重症 HIE 群 5 名中 3 名に神経学的後遺症を認めた。神経学的後遺症を有した児では、有していない児に比し、生後 1-2 日目における sST2 濃度は有意に高値であった ($P = 0.020$) (図 4a)。生後 6 時間以内、生後 3 および 7 日目では、sST2 濃度は神経学的後遺症の有無で差を認めなかった。神経学的予後を予測するための sST2 の cut-off 値を ROC 曲線で解析し、AUC は 0.917 と良好であった (図 5)。cut-off 値を ≥ 591 ng/mL とした場合、感度 100%、特異度 77.8%で、陽性的中率 66.7%、陰性的中率 100%であった (図 5)。Lac/NAA 比についても同様に神経学的後遺症を有した児において有意に高かった ($P < 0.001$) (図 4b)。

5.5. HIE 児における sST2 と Lac/NAA 比の関係

sST2 (生後 1-2 日)と $^1\text{H-MRS}$ (生後 4-14 日) を共に評価した HIE 児は 11 名であった。血清 sST2 濃度と基底核での Lac/NAA 比の関係について図 6 に示す。血清 sST2 濃度は Lac/NAA 比と正の相関を示した (Kendall の順位相関係数 $\tau = 0.527$, $P = 0.024$)。

6. 考察

本研究では、HIE において sST2 がその重症度に応じて誘導されることを解明し、sST2 が仮死で出生した児の神経学的予後予測および HIE の重症度判定のバイオマーカーとなりうる

ことが示唆された。血清 sST2 濃度は中等症および重症 HIE 群で生後 1-2 日目において増加していた。一方、生後 6 時間以内の sST2 濃度は上昇しておらず、HIE 児に対する低体温療法の適応を判断するための因子として用いることは困難であると考えられた。しかし、家族への説明時に HIE の重症度や予後予測について客観的に判断する情報として、sST2 濃度の測定は有用と考えられた。

動物実験において、膜貫通型受容体である ST2L は、低酸素虚血後の脳のグリア細胞で発現が上昇することが報告されている (13)。ST2L 遺伝子は sST2 もエンコードしており (15)、低酸素虚血による脳損傷により、ST2L と共に sST2 の発現量も増加する。sST2 は、急性心筋梗塞や心不全、喘息、脳卒中、外傷性脳損傷等の様々な疾患のバイオマーカーとなることが報告されており、sST2 の過剰発現は組織損傷による炎症と関係すると考えられている (10, 14, 16-19)。本研究において、sST2 濃度が神経学的予後と相関することが示された。新生児 HIE は神経発達障害を来す危険性の高い疾患で (1)、低酸素虚血による脳損傷の程度を評価することは重要である。神経学的予後は HIE の重症度と関係し、また MRS は患者の予後予測に有用とされ、基底核における Lac/NAA 比は、HIE 児の脳損傷の程度と強く相関する (7)。Lac/NAA 比は、神経学的予後の良い HIE 児と比べ、神経学的障害を持つ HIE 児において高くなるが、今回の研究で、sST2 濃度は Lac/NAA と良く相関し、予後不良患者において同様に上昇することが示された。Tau 蛋白やその他の脳損傷の予後予測マーカーと同様に、sST2 も脳損傷に伴う炎症を反映していると考えられる。

本研究で sST2 の経時的変化をみると、脳虚血後 1-2 日後に頂値となり、その後 7 日目までに基底値にまで低下した。動脈瘤破裂後 24 時間以内に手術を行ったクモ膜下出血患者に

において、脳脊髄液中と血清中の ST2 濃度は、手術翌日に最も高くなり、その後低下することが報告されている (20). このことは本研究の結果と類似の経過であり、sST2 は脳損傷後 1-2 日で発現が上昇し、その後低下すると考えられた. この sST2 が最も高くなる期間は低体温療法を行う期間と一致し、低酸素虚血により受けた脳神経損傷が引き起こす二次的な神経細胞死の誘導が起こると考えられる期間であるが、低体温療法の sST2 の発現調整に及ぼす影響については現時点では不明である.

本研究では、仮死で出生した児において、sST2 は HIE の重症度に応じて上昇したが、IL-33 は有意な上昇を認めなかった. 脳卒中やアルツハイマー病、多発性硬化症、慢性疼痛などの複数の神経疾患で IL-33 の発現が上昇することが報告されているが (21), 脳卒中 (10), 喘息 (18), 関節リウマチ (22), などの IL-33 が関与していると考えられている疾患患者においても、同様に血中 IL-33 濃度が著しく低く測定が困難な場合がある. 興味深いことに、生後 6 時間以内に得られた検体からは、IL-33 は対照群を含むほとんどすべての児において検出可能であったが、生後 1 日目以降ではほとんどの検体が測定限界以下であった. 出生早期においては、何らかの理由で IL-33 が高く、その後低下していくと考えられる. 今回の研究では、IL-33 の発現について十分な評価ができておらず、HIE と IL-33 との間の関係性について解明するには、さらなる研究が必要である.

近年、lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (sLOX-1) が新生児 HIE の重症度と予後予測のバイオマーカーとして有用であることが報告されたが (23), 臨床応用は未だ成されていない. 本研究で示すように、sST2 は、sLOX-1 と同様に新生児 HIE のバイオマーカーとして役立つ可能性がある. さらに、IL-33/ST2 経路の制御は新たな治療標的としても

期待される。新生仔マウス HIE モデルを用いた実験では、HIE による脳損傷が組み換え型 IL-33 を投与することで改善したことが報告されているが (13), sST2 は、IL-33 のデコイ受容体として IL-33/ST2 シグナル伝達経路を阻害する (24)。IL-33 および ST2 は共に、神経細胞には発現しておらず、グリア細胞で発現しており (14), IL-33/ST2 経路は、グリア細胞を介して中枢神経疾患における神経保護効果を発揮すると考えられる。IL-33/ST2 経路の制御により、低体温療法に追加できる新たな治療標的となる可能性があり、さらなる検討が必要である。

本研究にはいくつかの制限が挙げられる。第一に、単施設における小規模研究であること、データに複数の欠損値を認める事が挙げられる。これらの欠損値はランダム発生でありバイアスとはならないが、検定の検出力の低下につながる。しかし、sST2 は HIE の重症度に応じて統計学的に有意に上昇し (図 3, 表 5), また、sST2 は Lac/NAA 比とも正の相関を示した (図 6)。今後、より大規模な前向き研究での評価が求められる。第二に、sST2 の発現における低体温療法の影響について不明な点がある。今回、中等症及び重症 HIE 児に対し、1 名の重症 HIE 児を除いて低体温療法が実施された。低体温療法が実施できなかった 1 名では、sST2 は全ての患児の中で最も sST2 濃度が高く (データ未記載)、少なくとも低体温療法により sST2 の発現が誘導されることはないと考えられる。第三に、sST2 濃度が高値であった児において、予後良好である児が存在する。IL-33/ST2 経路は、組織傷害だけでなく、炎症やアレルギー等でも活性化されるため、HIE とは無関係に炎症等で sST2 が上昇する可能性が考えられた。第四に、対照群は完全な正常新生児ではない。しかしながら、血液ガス分析や臨床経過から、出生前後に低酸素虚血にはさらされていないと考えられ、HIE との比

較対象として妥当と考えられた。

7. 結語

IL-33 のデコイ受容体である sST2 が, HIE の重症度とその後の神経学的予後を予測するバイオマーカーとなることを同定した. IL-33/ST2 経路と HIE との関係について, より大規模な調査が必要である.

8. 謝辞

本研究への参加に同意いただいた全ての患児及びそのご家族, 山口大学医学部総合周産期母子医療センターのスタッフに深謝申し上げます. また, ご指導いただきました山口大学大学院医学系研究科医学専攻小児科学講座の長谷川俊史教授, 同高橋一雅講師に深謝申し上げます.

9. 参考文献

- 1 Shankaran S, Woldt E, Koepke T, Bedard MP, Nandyal R. Acute neonatal morbidity and long-term central nervous system sequelae of perinatal asphyxia in term infants. *Early Hum Dev.* 1991 May;25(2):135–48.
- 2 Simon NP. Long-term neurodevelopmental outcome of asphyxiated newborns. *Clin Perinatol.* 1999 Sep;26(3):767–78.
- 3 Chavez-Valdez R, Miller S, Spahic H, Vaidya D, Parkinson C, Dietrick B, et al. Therapeutic Hypothermia Modulates the Relationships Between Indicators of Severity of Neonatal Hypoxic Ischemic Encephalopathy and Serum Biomarkers. *Front Neurol.* 2021 Nov 2;12:748150.
- 4 Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol.* 1976 Oct;33(10):696–705.
- 5 Tagin MA, Woolcott CG, Vincer MJ, Whyte RK, Stinson DA. Hypothermia for neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: an updated systematic review and meta-analysis. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2012 Jun 1;166(6):558–66.
- 6 Douglas-Escobar MV, Heaton SC, Bennett J, Young LJ, Glushakova O, Xu X, et al. UCH-L1 and GFAP Serum Levels in Neonates with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Single Center Pilot Study. *Front Neurol.* 2014 Dec 19;5:273.
- 7 Alderliesten T, de Vries LS, Benders MJ, Koopman C, Groenendaal F. MR imaging and outcome of term neonates with perinatal asphyxia: value of diffusion-weighted MR imaging and ¹H MR spectroscopy. *Radiology.* 2011 Oct;261(1):235–42.

- 8 Takahashi K, Hasegawa S, Maeba S, Fukunaga S, Motoyama M, Hamano H, et al. Serum tau protein level serves as a predictive factor for neurological prognosis in neonatal asphyxia. *Brain Dev.* 2014 Sep;36(8):670–5.
- 9 Orrock JE, Panchapakesan K, Vezina G, Chang T, Harris K, Wang Y, et al. Association of brain injury and neonatal cytokine response during therapeutic hypothermia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatr Res.* 2016 May;79(5):742–7.
- 10 Korhonen P, Kanninen KM, Lehtonen Š, Lemarchant S, Puttonen KA, Oksanen M, et al. Immunomodulation by interleukin-33 is protective in stroke through modulation of inflammation. *Brain Behav Immun.* 2015 Oct;49:322–36.
- 11 Fairlie-Clarke K, Barbour M, Wilson C, Hridi SU, Allan D, Jiang HR. Expression and Function of IL-33/ST2 Axis in the Central Nervous System Under Normal and Diseased Conditions. *Front Immunol.* 2018 Nov 20;9:2596.
- 12 Lüthi AU, Cullen SP, McNeela EA, Duriez PJ, Afonina IS, Sheridan C, et al. Suppression of interleukin-33 bioactivity through proteolysis by apoptotic caspases. *Immunity.* 2009 Jul 17;31(1):84–98.
- 13 Jiao M, Li X, Chen L, Wang X, Yuan B, Liu T, et al. Neuroprotective effect of astrocyte-derived IL-33 in neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *J Neuroinflammation.* 2020 Aug 28;17(1):251.
- 14 Du Q, Weng JF, Luo LF, Cen M, Yu WH, Zheng YK, et al. Serum ST2 as a potential prognostic biomarker for traumatic brain injury. *Clin Chim Acta.* 2018 Dec;487:145–52.
- 15 Yanagisawa K, Takagi T, Tsukamoto T, Tetsuka T, Tominaga S. Presence of a novel primary

- response gene ST2L, encoding a product highly similar to the interleukin 1 receptor type 1. *FEBS Lett.* 1993 Feb 22;318(1):83–7.
- 16 Weinberg EO, Shimpo M, De Keulenaer GW, MacGillivray C, Tominaga S, Solomon SD, et al. Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. *Circulation.* 2002 Dec 3;106(23):2961–6.
- 17 Bhardwaj A, Januzzi JL Jr. ST2: a novel biomarker for heart failure. *Expert Rev Mol Diagn.* 2010 May;10(4):459–64.
- 18 Watanabe M, Nakamoto K, Inui T, Sada M, Honda K, Tamura M, et al. Serum sST2 levels predict severe exacerbation of asthma. *Respir Res.* 2018 Sep 3;19(1):169.
- 19 Andersson C, Preis SR, Beiser A, DeCarli C, Wollert KC, Wang TJ, et al. Associations of Circulating Growth Differentiation Factor-15 and ST2 Concentrations With Subclinical Vascular Brain Injury and Incident Stroke. *Stroke.* 2015 Sep;46(9):2568–75.
- 20 Kanda M, Ohto-Ozaki H, Kuroiwa K, Tominaga S, Watanabe E, Iwahana H. Elevation of ST2 protein levels in cerebrospinal fluid following subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurol Scand.* 2006 May;113(5):327–33.
- 21 Du LX, Wang YQ, Hua GQ, Mi WL. IL-33/ST2 Pathway as a Rational Therapeutic Target for CNS Diseases. *Neuroscience.* 2018 Jan 15;369:222–30.
- 22 Mu R, Huang HQ, Li YH, Li C, Ye H, Li ZG. Elevated serum interleukin 33 is associated with autoantibody production in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2010 Oct;37(10):2006–13.

- 23 Akamatsu T, Sugiyama T, Aoki Y, Kawabata K, Shimizu M, Okazaki K, et al. A Pilot Study of Soluble Form of LOX-1 as a Novel Biomarker for Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *J Pediatr*. 2019 Mar;206:49–55.e3.
- 24 Sun Y, Wen Y, Wang L, Wen L, You W, Wei S, et al. Therapeutic Opportunities of Interleukin-33 in the Central Nervous System. *Front Immunol*. 2021 May 17;12:654626.

この学位論文は, Hamano H, Takahashi K, Kimura S, Matsuguma C, Kaneyasu H, Fujimoto Y, Ohta N, Okada S, Hasegawa S. Interleukin-33 and Soluble ST2 Levels in Infants with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Neonatology*. 2023 Mar 30:1-10. Epub ahead of print. に原著論文として発表したものから, データを引用して作成しました.

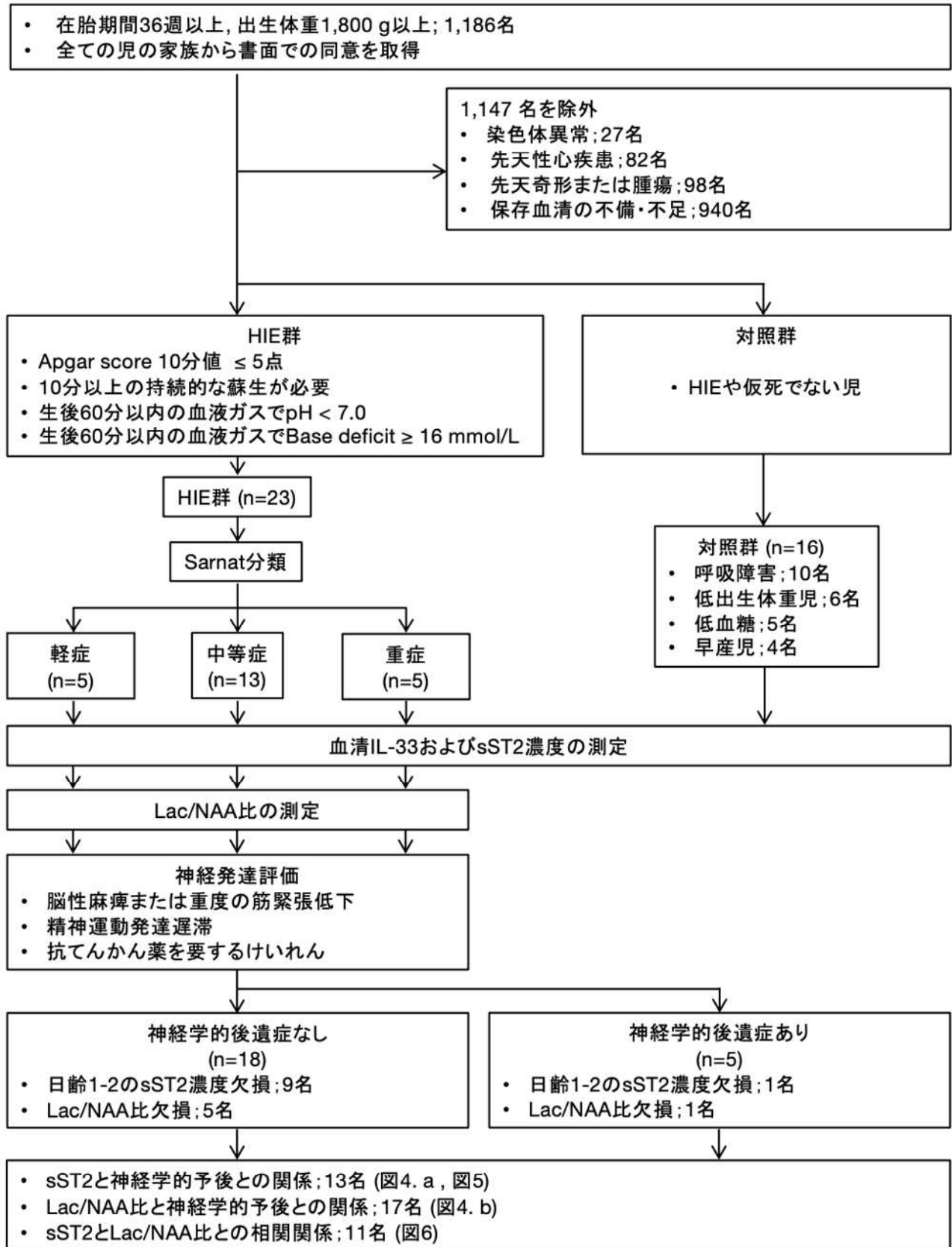


図1. 患者の分類

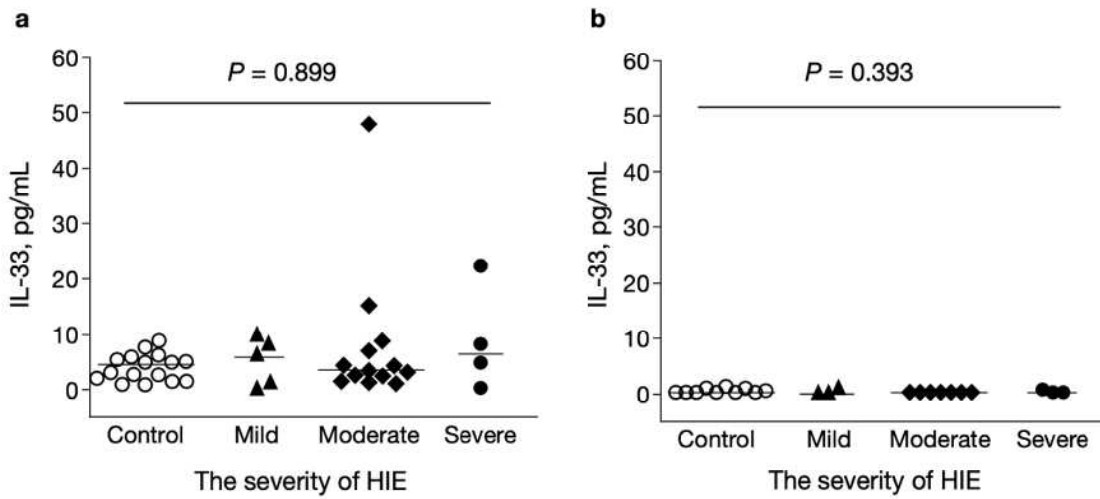


図 2. 各群における血清 IL-33 濃度の経時的変化.

生後 6 時間以内 (a), 生後 1-2 日目 (b) の血清 IL-33 濃度について散布図と中央値を示した.

Kruskal-Wallis 検定を行い, 各群間に有意差を認めなかった.

HIE, hypoxic-ischemic encephalopathy.

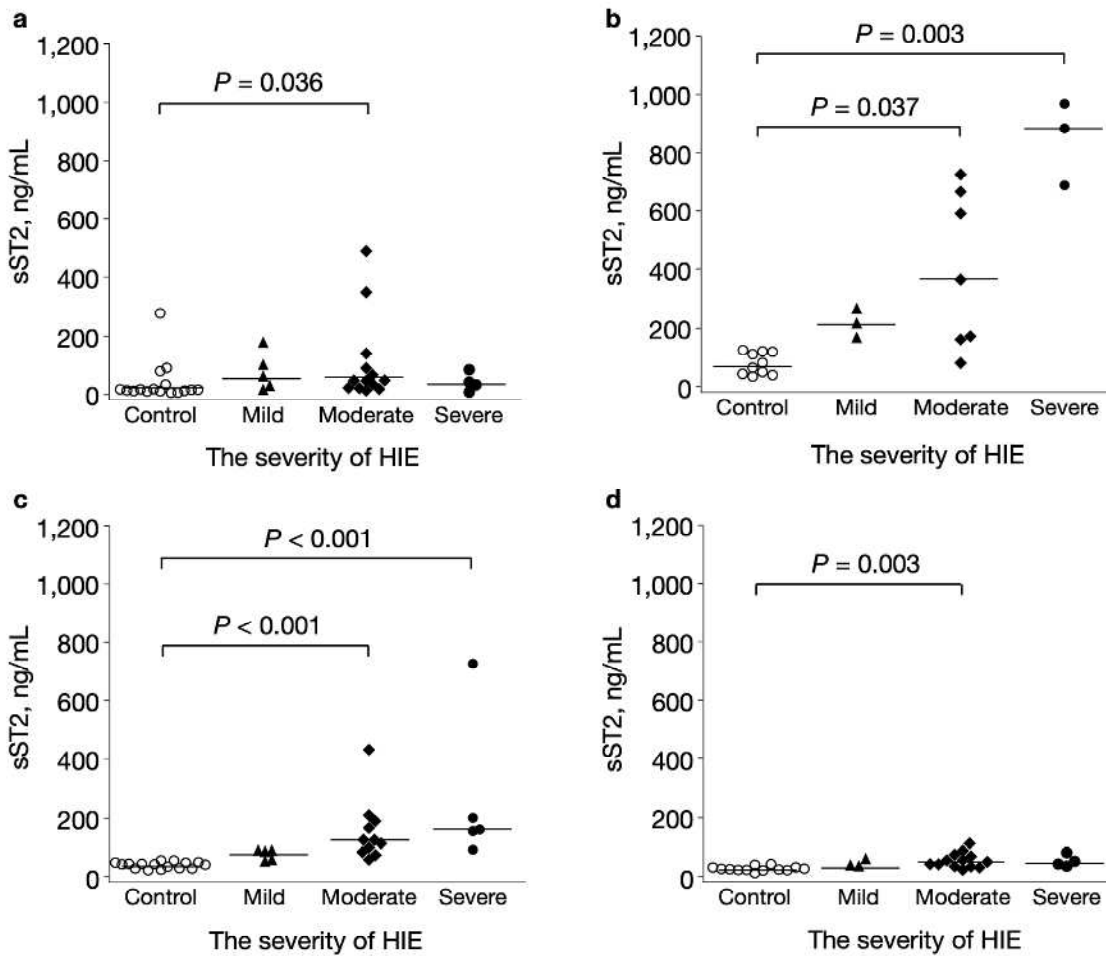


図 3. 各群における sST2 濃度の経時的変化.

(a) 生後 6 時間以内, (b) 生後 1-2 日目, (c) 生後 3 日目, (d) 生後 7 日目の各時点での血清 sST2 濃度の変化について, 散布図と中央値を示した. sST2 濃度は, 生後 1-2 日目及び 3 日目において, 中等症及び重症 HIE 群で著明に上昇した. 統計解析は Kruskal-Wallis 検定後の Dunn 検定により行った.

HIE, hypoxic-ischemic encephalopathy.

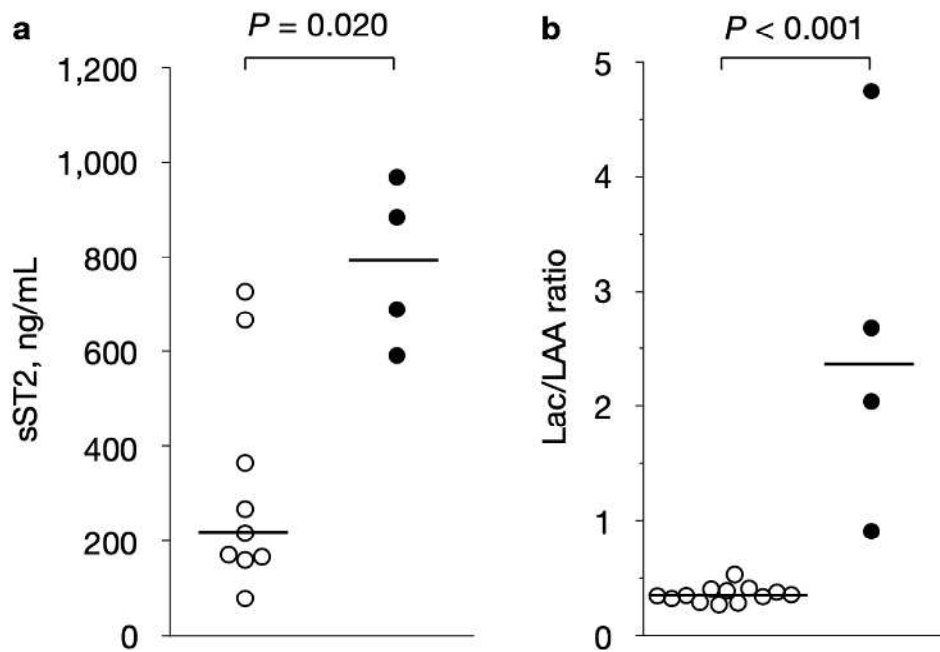


図 4. HIE 患者の sST2 濃度と Lac/NAA 比の神経学的後遺症の有無による比較. 生後 1-2 日目の sST2 濃度 (a) と, Lac/NAA 比 (b) について, 神経学的後遺症のある児 (●) と神経学的後遺症のない児 (○) で比較した. 神経学的後遺症を有した児では, 有していない児と比較し, 生後 1-2 日目における sST2 濃度および Lac/NAA 比は有意に高値であった. 統計解析は Wilcoxon rank-sum 検定により行った.

Lac, lactate; NAA, N-acetylaspartate.

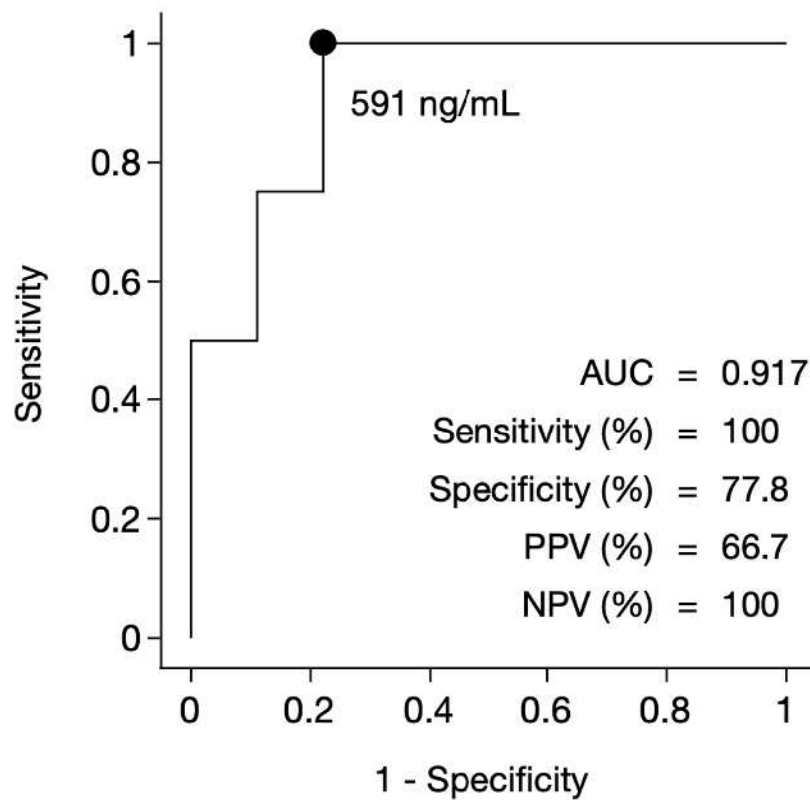


図 5. HIE 患者における sST2 濃度の神経学的予後予測能を示した ROC 曲線

生後 1-2 日目の sST2 濃度の ROC 曲線から, AUC は 0.917 と良好で, sST2 濃度の最適 cut-off 値は 591 ng/mL (感度 100%, 特異度 77.8%) であり, 陽性的中率 (PPV) は 66.7%, 陰性的中率 (NPV) は 100%であった.

ROC, receiver operating characteristic; AUC, area of under curve; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value

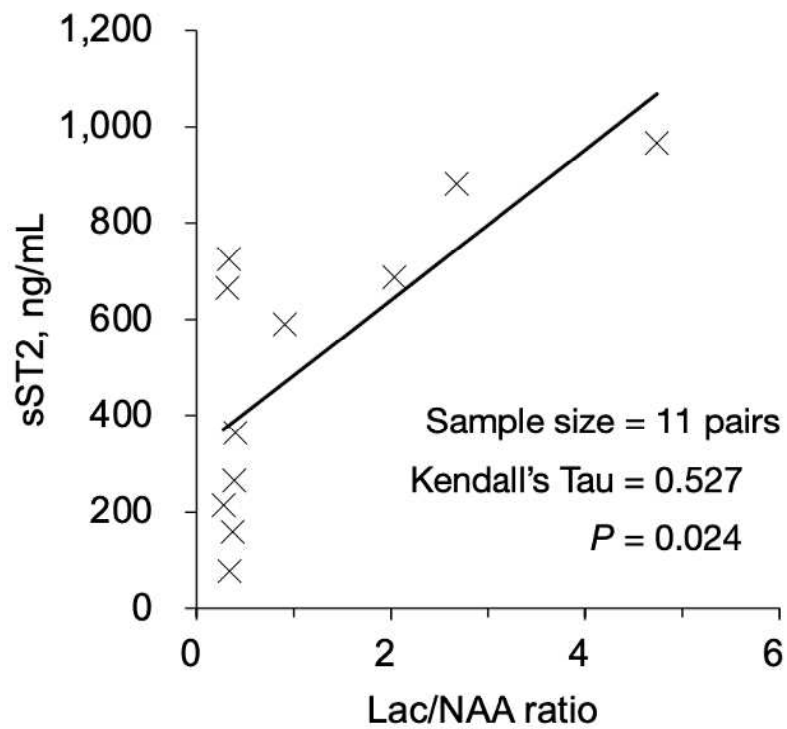


図 6. sST2 濃度と Lac/NAA 比の相関関係.

軽症から重症の HIE 児における生後 1-2 日目の sST2 濃度と Lac/NAA 比について、Kendall の順位相関係数を用いて検討し、sST2 濃度は Lac/NAA 比と正の相関を示した (相関係数 $\tau = 0.527$, $P = 0.024$).

Lac, lactate; NAA, N-acetylaspartate.

表 1. 検体採取の平均時間

群	検体採取時期, 出生後時間 (hr)			
	低体温療法開始前	低体温療法中	低体温療法終了後	寛解期
	(生後<6時間)	(生後1-2日目)	(生後3日目)	(生後7日目)
対照群	1.9 ± 1.6	32.9 ± 12.8	67.8 ± 4.2	163.9 ± 4.0
軽症 HIE	1.3 ± 0.6	29.1 ± 14.4	70.0 ± 5.2	166.3 ± 8.6
中等症 HIE	1.6 ± 1.7	28.7 ± 14.7	65.6 ± 5.2	162.2 ± 6.3
重症 HIE	0.8 ± 0.3	30.8 ± 9.7	66.5 ± 4.6	162.8 ± 4.7

値は平均値 ± 標準偏差で示す.

表 2. 母体と児の臨床的特徴

臨床的特徴	対照群		HIE		P value	
	(n=16)	軽症 (n=5)	中等症 (n=13)	重症 (n=5)	vs 対照群	
					全群	軽症 中等症 重症
母体						
年齢, 歳, 中央値 (四分位範囲)	29 (26-32)	30 (26-31)	25 (23-29)	27 (27-34)	0.723	- - -
経妊, 中央値 (四分位範囲)	2 (1-2)	1 (1-3)	1 (1-1)	2 (1-2)	0.449	- - -
経産, 中央値 (四分位範囲)	2 (1-2)	1 (1-3)	1 (1-1)	1 (1-2)	0.359	- - -
胎児機能不全, n (%)	1 (6)	2 (40)	9 (69)	3 (60)	0.002	0.383 0.003 0.083
経膈分娩, n (%)	10 (63)	3 (60)	8 (62)	3 (60)	1.000	- - -
緊急帝王切開, n (%)	4 (25)	2 (40)	8 (62)	3 (60)	0.220	- - -
子宮破裂, n (%)	0 (0)	0 (0)	1 (8)	0 (0)	0.590	- - -
児						
出生体重, g, 中央値 (四分位範囲)	2,670 (2,325-3,110)	2,780 (2,654-2,796)	3,018 (2,604-3,302)	2,910 (2,759-2,970)	0.508	- - -
在胎週数, 週, 中央値 (四分位範囲)	38 (37-39)	39 (38-39)	40 (39-40)	39 (37-39)	0.092	- - -
男児, n (%)	9 (56)	2 (40)	7 (54)	1 (20)	0.605	- - -
Apgar スコア ≤5, n (%)						
1 分	0 (0)	2 (40)	12 (92)	4 (80)	<0.001	0.143 <0.001 0.002
5 分	0 (0)	1 (20)	12 (92)	4 (80)	<0.001	0.714 <0.001 0.002
10 分	0 (0)	0 (0)	3 (23)	3 (60)	<0.001	1.000 0.169 0.003
分娩室での気管挿管, n (%)	0 (0)	1 (20)	6 (46)	4 (80)	<0.001	0.714 0.011 0.002
10 分時点での蘇生, n (%)	0 (0)	1 (20)	13 (100)	4 (80)	<0.001	0.714 <0.001 0.002
生後 60 分以内の血液ガス分析						
pH, 中央値 (四分位範囲)	7.29 (7.25-7.32)	7.02 (6.98-7.20)	6.97 (6.93-6.98)	6.78 (6.75-6.82)	<0.001	0.111 <0.001 <0.001
Base deficit, mmol/L, 中央値 (四分位範囲)	4.0 (1.8-5.0)	14.9 (8.5-16.7)	17.6 (15.1-20.8)	27.4 (23.7-29.0)	<0.001	0.055 <0.001 <0.001
院外出生, n (%)	2 (13)	2 (40)	6 (46)	2 (40)	0.168	- - -

統計解析は Kruskal-Wallis 検定後の Dunn 検定または Bonferroni 補正による Fisher の正確検定を用いた。

HIE, hypoxic-ischemic encephalopathy

表 3. 各群の Apgar スコア

出生後時間	Apgar スコア, 中央値 (範囲)			
	対照群	軽症 HIE	中等症 HIE	重症 HIE
1 分	8 (7-9)	6 (2-8)	2 (1-7)	0 (0-6)
5 分	9 (8-10)	9 (4-9)	4 (2-6)	2 (0-8)
10 分	未評価	8 (6-9)	6 (4-8)	3 (0-4)

対照群では全身状態良好のため 10 分は未評価.

表 4. 児の特徴と合併症

合併症	対照群			HIE			P 値		
	(n=16)	軽症 (n=5)		中等症 (n=13)		重症 (n=5)	vs 対照群		
		軽症	中等症	重症	軽症		中等症	重症	
低体温療法, n (%)	0 (0)	0 (0)	13 (100)	4 (80)	<0.001	1.000	<0.001	0.002	
入院期間, 日, 中央値 (四分位範囲)	11 (10-14)	11 (10-22)	20 (18-30)	38 (27-42)	<0.001	1.000	0.004	0.001	
酸素投与, n (%)	5 (31)	2 (40)	9 (69)	5 (100)	0.022	1.000	<0.001	<0.001	
人工呼吸器管理, n (%)	0 (0)	1 (20)	13 (100)	5 (100)	<0.001	0.714	<0.001	<0.001	
酸素使用期間, 日, 中央値 (四分位範囲)	0 (0-1)	0 (0-1)	5 (0-5)	6 (6-10)	<0.001	1.000	0.119	0.001	
人工呼吸期間, 日, 中央値 (四分位範囲)	0 (0-0)	0 (0-0)	6 (5-6)	14 (7-15)	<0.001	1.000	<0.001	<0.001	
Full feeding までの期間, 中央値 (四分位範囲)	4 (3-4)	3 (3-5)	10 (8-10)	11 (10-11)	<0.001	1.000	<0.001	0.001	
重症合併症, n (%)	0 (0)	0 (0)	1 (8)	2 (40)	0.042	1.000	1.000	0.143	
新生児遷延性肺高血圧症	0 (0)	0 (0)	1 (8)	1 (20)	0.236	-	-	-	
播種性血管内凝固	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0.256	-	-	-	
敗血症	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	NA	-	-	-	
神経学的障害, n (%)	0 (0)	1 (20)	2 (15)	3 (60)	0.008	0.714	0.576	0.023	
摂食障害	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (40)	0.027	1.000	1.000	0.143	
抗てんかん薬を要するけいれん	0 (0)	0 (0)	1 (8)	3 (60)	0.006	1.000	1.000	0.023	
難聴	0 (0)	1 (20)	0 (0)	2 (40)	0.013	0.714	1.000	0.143	
脳性麻痺	0 (0)	0 (0)	1 (8)	3 (60)	0.006	1.000	1.000	0.023	

統計解析は Kruskal-Wallis 検定後の Dunn 検定または Bonferroni 補正による Fisher の正確検定を用いた。

NA, not available. Full feeding, 経腸栄養 >100 mL/kg/日。

表 5. 血清 sST2 濃度と HIE 重症度の相関関係

生後時間	ANOVA	決定係数 R ²	回帰係数	95% 信頼区間		P 値
				下限	上限	
< 6 時間	0.279	0.033	-	-	-	-
1-2 日目	< 0.001	0.683	216.4	149.5	283.4	< 0.001
3 日目	< 0.001	0.354	68.5	36.8	100.3	< 0.001
7 日目	0.001	0.313	11.2	5.1	17.2	0.001

分散分析後の線形回帰分析を用いて sST2 濃度と HIE 重症度との相関関係について解析した。

ANOVA, analysis of variance.