



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Influence of light exposure in night time on sleep development of preterm infants
Author(s)	兼次, 洋介
Description	配架番号 : 2142
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11660号
Issue Date	2015-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k11660
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60801
Type	doctoral thesis
File Information	Yosuke_Kaneshi.pdf



学 位 論 文

Influence of light exposure in night time on sleep development of preterm infants

(夜間の光曝露が早産児の睡眠発達に及ぼす影響に関する研究)

2015 年 3 月

北 海 道 大 学

兼 次 洋 介

目 次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
緒言	2 頁
略語表	5 頁
研究方法	6 頁
1. 研究デザイン	6 頁
2. 研究場所	6 頁
3. 研究実施期間	6 頁
4. 対象症例	6 頁
5. 介入期間	6 頁
6. 照明環境	6 頁
7. 照明のモニタリング	9 頁
8. 評価・計測項目	9 頁
9. 統計解析	10 頁
研究結果	11 頁
1. 対象症例	11 頁
2. 照明環境	12 頁
3. 活動量の解析	12 頁
4. 夜間啼泣回数の解析	18 頁
5. 成長発育の解析	20 頁
考察	21 頁
総括および結論	24 頁
謝辞	25 頁
引用文献	26 頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した

Yosuke Kaneshi*, Hidenobu Ohta, Kazutoshi Cho, Kita Morioka, Itaru Hayasaka, Yutaka Uzuki, Takuma Akimoto, Akinori Moriichi, Machiko Nakagawa, Hisanori Wakamatsu, Miyuki Shimokawara, Hisanori Minakami.

Influence of light exposure in night time on sleep development of preterm infants. *New England Journal of Medicine* (投稿中)

本研究の一部は以下の学会で発表した。

Yosuke Kaneshi*, Hidenobu Ohta, Kazutoshi Cho, Keita Morioka, Itaru Hayasaka, Yutaka Uzuki, Takuma Akimoto, Akinori Moriichi, Machiko Nakagawa, Hisanori Wakamatsu, Miyuki Shimokawara, Hisanori Minakami

Effects of red LED light on sleep development of preterm infants.

Hot topics in Neonatology 2014, Dec 8 2014, Washington D.C., USA

緒言

サーカディアンリズムとは、体内で作られる約 24 時間周期のリズムであり、睡眠覚醒リズムやホルモン分泌・体温等にとどまらず、生体内での様々な活動を制御している¹。サーカディアンリズムを作り出している生物時計の中核は、視床下部の視交叉上核に存在する²。近年、サーカディアンリズムの発達は胎児期から始まる事が明らかとなった。動物実験では、胎児期から視交叉上核は形成され、サーカディアンリズムを刻んでいる事が明らかとなった³。また、ヒトの研究では、胎児心拍数、胎児呼吸様運動、コルチゾール分泌などがサーカディアンリズムに従っている事が明らかとなった⁴。胎児のサーカディアンリズムは、母体が刻んでいるメラトニン分泌・コルチゾール分泌・体温等のサーカディアンリズムや、母体の食事の影響を受けて作られている⁵。

サーカディアンリズムは胎児の発達・発育において重要である。動物実験では、妊娠ラットを恒明環境においてサーカディアンリズムを乱す事により、胎児発育遅延となることがわかっている⁶。また、サーカディアンリズムを乱したマウスモデルでは、流産が増加し、胎児の高レプチン血症・高インスリン血症を惹起する^{7,8}。疫学研究では、夜勤シフトの仕事をしている妊婦は、妊孕性の低下⁹、流産、早産、低出生体重児などのリスクが高まる事がわかっている^{10,11,12}。

母体のリズムから切り離された、出生後のサーカディアンリズムは、主として光刺激により 24 時間周期に同期される¹³。正期産児においては、サーカディアンリズムは生後急速に発達し、生後 1-3 ヶ月で成熟し、睡眠覚醒パターンや体温、ホルモン分泌等において、24 時間周期のリズムが確立する¹⁴。光刺激を受けた網膜細胞は、サーカディアンリズムの中核である視交叉上核へ情報を投射し、生物時計を調整している。網膜では、桿体細胞(Rod cell)、錐体細胞(Cone cell)、光感受性網膜神経節細胞(pRGC:photosensitive retinal ganglion cell)の 3 つの細胞において、それぞれロドプシン、コーンオプシン、メラノプシンという光受容体が働いている。桿体細胞と錐体細胞は、形の情報をとらえており、特に錐体細胞は色の情報も処理している。それに対して、光感受性網膜神経節細胞は、明暗情報のみを処理しており、視交叉上核へ直接情報を投射し、サーカディアンリズムを調整している¹⁵。それぞれの光受容体は、反応できる波長に違いがあり、ロドプシン、コーンオプシン、メラノプシンは、それぞれ 610nm 以下、680nm 以下、580nm 以下の波長に対して反応できる事が明らかとなっている¹⁶。これ

ら光受容体の発達は、ロドプシンは生後 36 時間¹⁷から、コーンオプシンは生後 2 ヶ月¹⁸から働き始めるのに対して、メラノプシンは両者より早く出生直後から働き始めている¹⁹。さらに、ヒト早産児における研究によると、修正 30 週以降で対光反射が認められる事がわかっている^{20,21}。また、ヒヒをモデルとした研究により、ヒトの修正 25 週相当から視交叉上核が活動している事が示されている²²。よって、少なくとも修正 30 週前後からは早産児は光を感じていることが明らかとなっている。

早産児においても、新生児集中治療室(NICU: Neonatal Intensive Care Unit)を明暗環境とする光刺激により、恒明環境・恒暗環境と比較して、サーカディアンリズムの発達が促されることが明らかとなっている²³。また、NICU を明暗環境とすることにより、恒明環境・恒暗環境と比較して、体重増加が促されることがいくつかの臨床研究から明らかとなっており^{24,25,26}、胎児期と同様に、早産児にとってもサーカディアンリズムは発育・発達に重要であることが示された。よって、NICU の光環境は明暗環境が望ましいが、医療行為・ケア業務をする上では夜間に暗い環境とすることは難しく、また夜間暗い環境は NICU で働く医療従事者にとっても労働環境として適切ではない。このように、NICU は集中治療を行う場であると同時に発達・発育を促す場であり、この 2 つの側面をもつため、光環境においてジレンマを抱えている。

そこで、このジレンマを解決するため、渡辺らはメラノプシン・ロドプシンが知覚する波長 610nm 以下の光を遮断する光フィルターを開発し、早産児の保育器カバーとして使用し人工昼夜を導入する一方で、成人である医療従事者は残りのコーンオプシンを利用して患児を観察できるようにし、光フィルター使用群(明暗環境)と光フィルター不使用群(恒明環境)に分けてランダム化比較試験を行った。その結果、光フィルターを使用した明暗環境群において、日中活動量が増加し、夜間活動量が減少し、D/N ratio(Day-Night activity ratio; 日中の 1 時間あたりの活動量と夜間の 1 時間あたりの活動量の比)は有意に増加し、活動量におけるサーカディアンリズムの発達が促され、よりよい体重増加が得られた²⁷。

今までの臨床研究では、恒明環境または恒暗環境と明暗環境の比較がなされており、明暗環境がサーカディアンリズムの発達にいい影響を及ぼす事は明らかとなっている。しかし、明暗環境下において、夜間処置時に使用する短時間の光刺激が、早産児のサーカディアンリズムの発達に与える影響に関する検討

はこれまでなされていない。北海道大学病院 NICU は、昼間は明るく、夜間は暗い明暗環境を導入しているが、夜間の授乳やおむつ交換などの処置の際にはライトを使用し一時的に明るくしていた。今回我々は、渡辺らが使用した光フィルターと同様の特性を持つ、早産児が知覚できない 725nm 周辺の波長の光で構成される赤色 LED(light emitting diode)ライトを開発した。この赤色 LED ライトを明暗環境下にある GCU(Growing Care Unit: NICU の回復室)で夜間処置時に使用する事により、患児に対する光刺激を少なくする事が可能となり、それによってよりサーカディアンリズムの発達が促進され、体重増加が得られるのではないかと考えた。また、短時間の白色 LED ライトによる光刺激がサーカディアンリズムに与える影響を調べる事が出来ると考えた。この二つの事を検証するため、今回我々は、夜間処置時に使用する照明として赤色 LED ライトを使用した介入群と、通常の白色 LED ライトを使用した対照群の 2 群に分けた無作為ランダム化比較試験を行い、日中と夜間の活動量と夜間啼泣回数、体重増加を比較した。

略語表

本文中および図中で使用した略語は以下の通りである。

D/N ratio:	Day-Night activity ratio; 日中の 1 時間あたりの活動量と夜間の 1 時間あたりの活動量の比
GCU	Growing Care Unit; NICU の回復室
LED:	light emitting diode; 発光ダイオード
NICU:	Neonatal Intensive Care Unit; 新生児集中治療室
pRGC:	photosensitive retinal ganglion cell; 光感受性網膜神経節細胞

研究方法

1. 研究デザイン 無作為ランダム化比較試験。
2. 研究場所 北海道大学病院 GCU。NICU から GCU へ移床してから研究開始とした。
3. 研究実施期間 2013 年 1 月～2014 年 8 月。
4. 対象症例

4.1 対象選択基準

在胎週数 36 週以下の早産児で、修正月齢 1 ヶ月未満で、呼吸循環動態が安定しており、GCU へ移床後、退院前に体重増加と成熟を待っている児を対象とした。また、両親から同意文書の得られた児を対象とした。

4.2 除外基準

染色体異常や多発奇形を合併する児、国際分類で stage3 以上の未熟児網膜症を有する児、Papile 分類 grade3-4 の脳室内出血や、脳出周囲白質軟化症などの頭蓋内病変を有する児を除外した。

4.3 解析離脱基準

細菌感染症などの医学的問題により、集中治療を要するためプロトコールからの逸脱が 1 週間を超えた児は、解析から除外した。

5. 介入期間

介入期間は、研究同意取得後から、退院・あるいは転棟した時点、修正 44 週(修正 1 ヶ月齢)に達した時点、介入開始後 8 週間を経過した時点までとした。

6. 照明環境

GCU の照明環境は、午前 6 時から午後 9 時まで(15 時間)の日中は照度 40～100 lux で、天井からの白色 LED 照明が使用されている照明環境である。午後 9 時

から午前 6 時まで(9 時間)の夜間は、照度 1～5 lux の照明環境である。上記の明暗環境下において、夜間(午後 9 時～午前 6 時)の授乳・おむつ交換等の処置時に使用する照明によって、対象症例を以下の 2 つの群に乱数表によりランダム割り付けした。

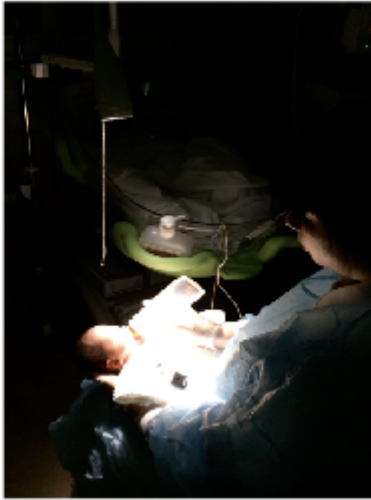
6.1 対照群(白色 LED ライト群)

授乳・おむつ交換時に、光エネルギー量 $1100\mu\text{W}/\text{cm}^2$ の白色 LED ライト (Atom Medical Co., Saitama, Japan)(図 1A)を、40cm の距離で使用した。約 3 時間毎、1 回 15 分間以内で使用した。

6.2 介入群(赤色 LED ライト群)

授乳・おむつ交換時に、中心波長 725nm で構成され、白色 LED ライトと同じ光エネルギー量である $1100\mu\text{W}/\text{cm}^2$ に設定した、赤色 LED ライト(Atom Medical Co., Saitama, Japan)(図 1B)を、40cm の距離で使用した。約 3 時間毎、1 回 15 分間以内で使用した。白色 LED ライト、赤色 LED ライト双方の、波長の分布と光量を示したものを図 1C に示す。

A



B



C

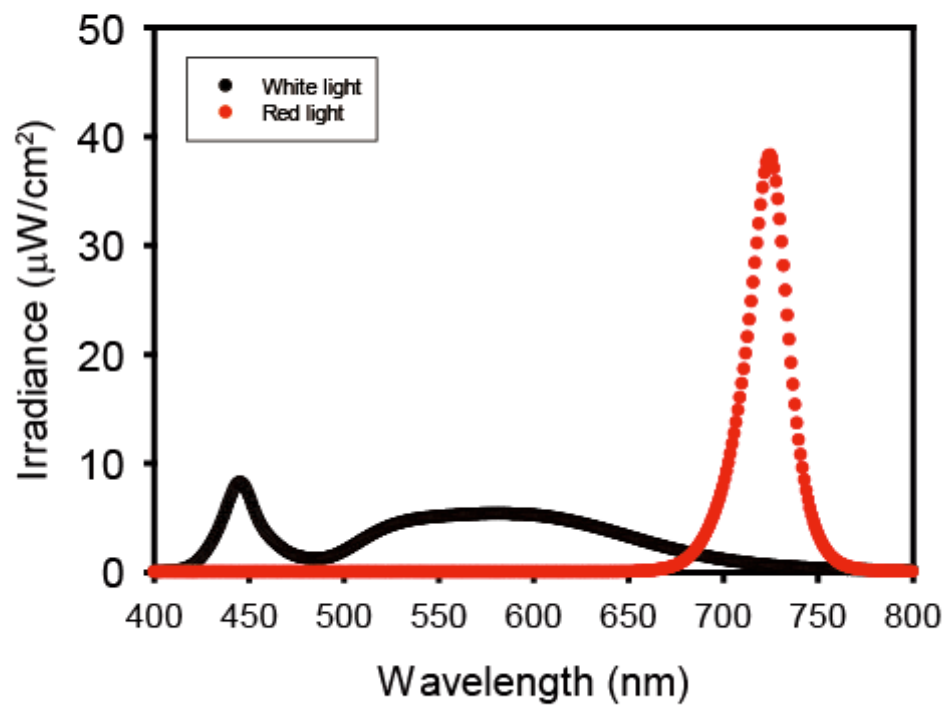


図 1A GCU における対照群(白色 LED ライト群)の授乳風景

図 1B GCU における介入群(赤色 LED ライト群)の授乳風景

図 1C 白色 LED ライトと赤色 LED ライトの波長と光エネルギー分布

本研究で使用した白色 LED ライトと赤色 LED ライトの波長と光エネルギーの

分布を示した。白色 LED ライトの波長のピークは 450nm 付近にあり、赤色 LED ライトの波長のピークは 725nm 付近にある。これは、ロドプシンの反応限界である 610nm を大きく超えている。

7. 照明のモニタリング

GCU の照明環境は、小型光センサーである Actiwatch-L light sensor (Minimitter Co., OR, USA) を、対象症例それぞれの枕元に設置して、介入期間を通して 24 時間持続で記録を行った。よって、照度計測は、対象患児に届いた光の強さを反映している。これらの計測データは、Actiware software (Minimitter Co., OR, USA) で保存・解析を行った。

8. 評価・計測項目

夜間活動量、日中活動量、日中活動量と夜間活動量の比(D/N ratio; Day-Night activity ratio)、夜間啼泣回数、身体発育(体重・身長・頭囲)について、介入期間中に計測・解析を行った。

8.1 活動量(夜間活動量、日中活動量、D/N ratio)

研究に参加したすべての患児は、介入開始時から介入終了時までの間、小型活動量計である Actiwatch-L (Minimitter Co., OR, USA) を、足首に柔らかいバンドで巻いて装着した。この Actiwatch-L は、内蔵された加速度センサーにより、体動を計測し記録する事が出来るため、1 日を通じた活動量を測定することが可能となる。また、Actiwatch の感度は<0.01 Newton に設定した。Actiwatch-L は、照度計側で使用した小型照度計と同一のものである。Actiwatch-L で計測した活動量は、Actiware software (Minimitter Co., OR, USA) で解析した。

活動量として、夜間活動量と日中活動量について計測・解析を行った。夜間活動量は、夜間(午後 9 時～午前 6 時)における 1 時間あたりの活動量と定義した。日中活動量は、日中(午前 6 時～午後 9 時)における 1 時間あたりの活動量と定義した。

次に、活動量に昼夜で日内リズムが生じているかを確認するため、日中(午前 6 時～午後 9 時)と夜間(午後 9 時～午前 6 時)における、1 時間あたりの活動量の比を D/N ratio として計測・解析した。D/N ratio が 1.0 よりも大きい事は、夜間よりも日中の方が活動的であり、活動量の日内リズムが生じていることを

示している。

夜間活動量・日中活動量・D/N ratio のそれぞれについて、修正週数をそろえて検討するため、修正 35 週から 39 週で、7 日間毎のブロックに分けて解析した。

これらの解析は、個々の症例と Actiwatch の感度の違いを補正するために、対象症例それぞれで行った。

8.2 夜間啼泣回数

夜間(午後 9 時から午前 6 時)における啼泣回数を看護師により記録し、解析した。患児が覚醒し、看護師により泣いていると認識された時点で「啼泣」と定義した。修正週数をそろえて検討するため、修正 35 週から 39 週で、7 日間毎のブロックに分けて解析した。

8.3 身体発育(体重・身長・頭囲)

入院期間中は、対象症例の体重測定を連日行なった。身長・頭囲は入退院時と、その後は 1 週間毎に測定した。介入期間中の 1 日あたりの体重増加(+g/day)、身長増加(+cm/day)、頭囲増加(+cm/day)を解析した。

9. 統計解析

2 群間の比較には t-test、多群間の比較には one-way ANOVA followed by Dunnett's test を行い、 $p < 0.05$ を有意とした。統計解析には SPSS Version 12.0 (SPSS, Inc, Chicago, USA)を使用した。

上記プロトコールは、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の審査を受け、承認された。また、すべての登録患者の保護者から、署名でのインフォームド・コンセントを取得した。

研究結果

1. 対象症例

合計 39 人の患者が研究に参加した。患者背景は表 1 に記載した。両群間で、出生体重、在胎週数、介入開始時の修正週数、介入期間、退院時体重、退院時頭囲、母体年齢に関して有意差を認めなかった。対照群(白色 LED ライト群)と介入群(赤色 LED ライト群)は、それぞれ修正 40.3 ± 1.8 週、 40.4 ± 1.9 週 ($p > 0.05$; t test)で退院し、有意差を認めなかった。

表 1 患者背景

	White light group ($n=20$)	Red light group ($n=19$)
Birth weight, g	1556 ± 464	1521 ± 350
Gestational age at birth, wk	32.3 ± 2.3	32.4 ± 1.8
Gestational age at enrollment, wk	36.2 ± 1.3	35.9 ± 1.8
Length of intervention, d	29.6 ± 11.0	32.2 ± 11.6
discharge weight, g	2937 ± 478	2928 ± 610
discharge head circumference, cm	35.0 ± 1.7	34.6 ± 1.5
Maternal age	35.3 ± 4.6	34.0 ± 4.1

All comparisons between groups $P > 0.05$, t test.

2. 照明環境

対照群(白色 LED ライト群)も介入群(赤色 LED ライト群)も、日中(午前 6 時～午後 9 時)の光曝露は、 44.4 ± 10.7 lux と、 45.7 ± 14.1 lux ($p > 0.05$; t test)であり、有意差を認めなかった。また、夜間(午後 9 時～午前 6 時)の光曝露は、対照群(白色 LED ライト群)で 12.3 ± 10.1 lux、介入群(赤色 LED ライト群)で 5.4 ± 2.6 lux ($p > 0.05$; t test)であり、有意差を認めなかった。

3. 活動量の解析

夜間活動量、日中活動量、日中活動量と夜間活動量の比(D/N ratio; Day-Night activity ratio)、について計測・解析を行った。修正週数をそろえて検討するため、修正 35 週から修正 39 週の 7 日毎のブロックに分けて、週数毎に解析を行った。

図 2 に、Actiware software で解析した Actogram の代表例を示した。

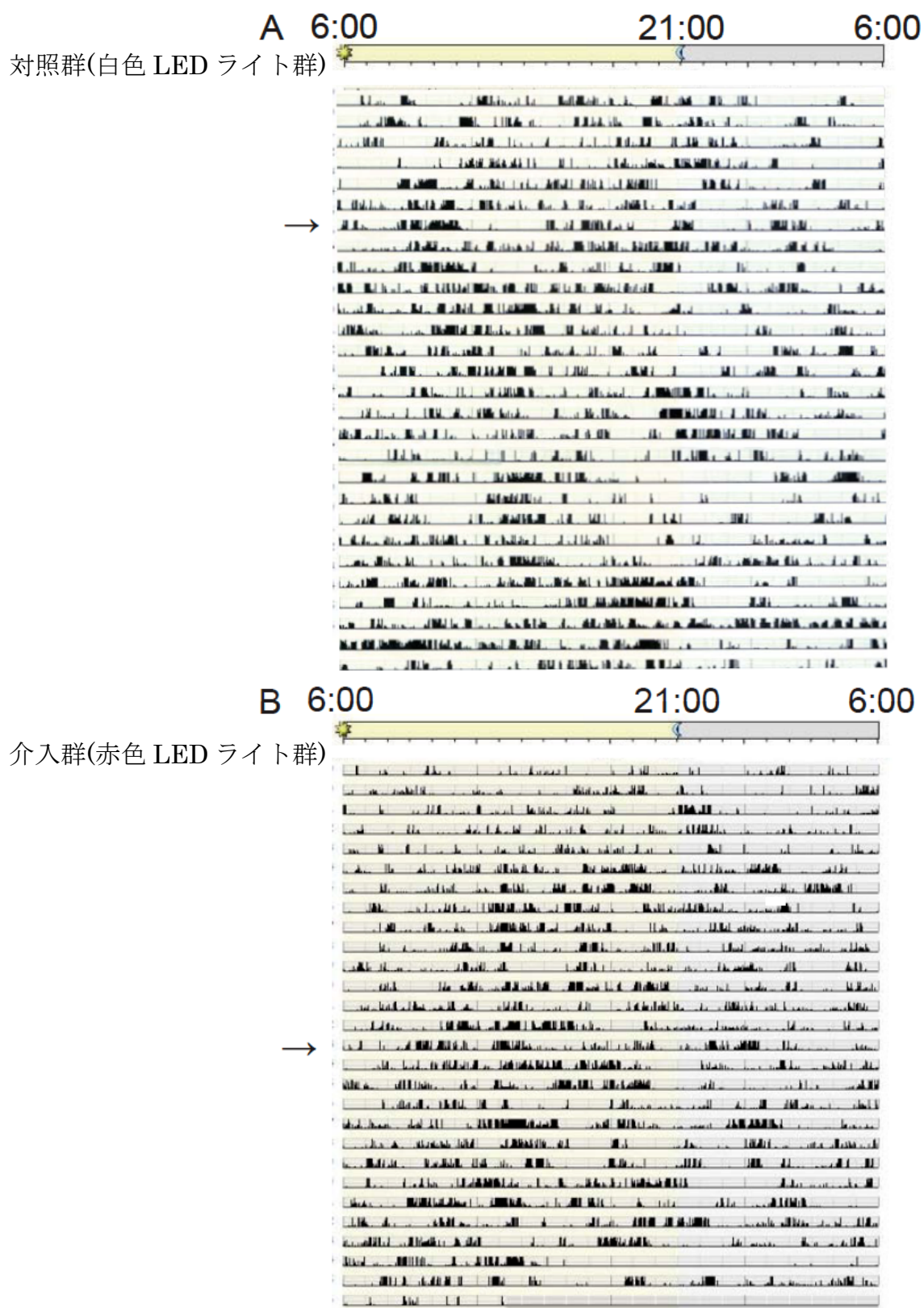


図2 Actiware software で解析した Actgram の代表例

Actiware software で解析した Actogram を示す。それぞれ、対照群(白色 LED ライト群)(A)と、介入群(赤色 LED ライト群)(B)の代表的な症例を示した。黒い線が活動量を示し、グラフの上部には一日の時刻が記載されており、一列で一日の活動パターンを示している。修正 38 週 0 日を矢印で示した。

3.1 夜間活動量

夜間活動量として、各群の夜間(午後 9 時～午前 6 時)における 1 時間あたりの活動量の解析を行った。

修正 35 週から 39 週の 7 日毎のブロックに分けて解析した。対照群(白色 LED ライト群)と介入群(赤色 LED ライト群)で、修正 35 週と修正 38 週で有意に介入群の夜間活動量が少なかった(表 2)。

表 2 夜間活動量の比較

	対照群 (白色 LED ライト群)(回/時間)	介入群 (赤色 LED ライト群)(回/時間)	t test
修正 35 週	3666±1366	2455±852	p=0.0314
修正 36 週	3461±1152	2737±844	
修正 37 週	3922±1367	3388±890	
修正 38 週	4105±1396	3269±582	p=0.0476
修正 39 週	4162±1452	3486±861	

なお、各修正週数毎の解析人数は、下記のようになった。

修正 35 週: 対照群 9 例、介入群 10 例。

修正 36 週: 対照群 18 例、介入群 14 例。

修正 37 週: 対照群 17 例、介入群 15 例。

修正 38 週: 対照群 15 例、介入群 13 例。

修正 39 週: 対照群 14 例、介入群 13 例。

3.2 日中活動量

1 日を通しての活動量の評価を行うため、日中活動量として、各群の日中(午前 6 時～午後 9 時)における 1 時間あたりの活動量の解析を行った。修正 35 週から 39 週の 7 日毎のブロックに分けて解析し、対照群(白色 LED ライト群)と介入群(赤色 LED ライト群)で、修正 38 週のみで有意に介入群の日中活動量が低かった(表 3)。

表 3 日中活動量の比較

	対照群 (白色 LED ライト群)(回/時間)	介入群 (赤色 LED ライト群)(回/時間)	t test
修正 35 週	3530 ± 1701	2623 ± 781	
修正 36 週	3845 ± 1398	3062 ± 752	
修正 37 週	4369 ± 1432	3576 ± 993	
修正 38 週	4802 ± 1324	3783 ± 820	p=0.0267
修正 39 週	4803 ± 1069	4441 ± 806	

3.3 Day-Night activity ratio (D/N ratio)

最後に、活動量に昼夜で日内リズムが生じているかを確認するため、日中(午前 6 時～午後 9 時)と夜間(午後 9 時～午前 6 時)の 1 時間あたりの活動量の比(D/N ratio)を比較し、活動量の日内リズムの有無を検討した。各群の対象症例それぞれで D/N ratio を算出し、解析した。

修正 35 週から 39 週の 7 日毎のブロックに分けて解析した。対照群(白色 LED ライト群)と介入群(赤色 LED ライト群)で有意差を認めなかった(図 3)。

修正 35 週において D/N ratio は、対照群では 0.99 ± 0.19 であり、夜よりも昼の方が 1%活動量が少ない事を示している。介入群では 1.24 ± 0.47 であり、夜よりも昼の方が 24%活動量が多い事を示している。よって、修正 35 週時点で、既に両群ともに D/N ratio が 1.0 に近い値となっており、活動量の日内リズムが生まれ始めていた。

3.4 各群間での D/N ratio の比較 (図 3)

対照群(白色 LED ライト群)・介入群(赤色 LED ライト群)の各群における、D/N ratio の経時的な変化を評価する為、repeated measures analysis を行い、各群の修

正 35, 36, 37, 38, 39 週で群間比較を行った。修正 35 週から 39 週にかけて、両群とも、D/N ratio は上昇傾向にあったが、有意差は認めなかった(one-way ANOVA followed by Dunnett's test; 対照群: $p>0.05$, 介入群: $p>0.05$)。また、各週数毎の群間比較を行ったが、いずれの群間においても有意差を認めなかった(one-way ANOVA followed by Dunnett's test; 対照群: $p>0.05$, 介入群: $p>0.05$)。

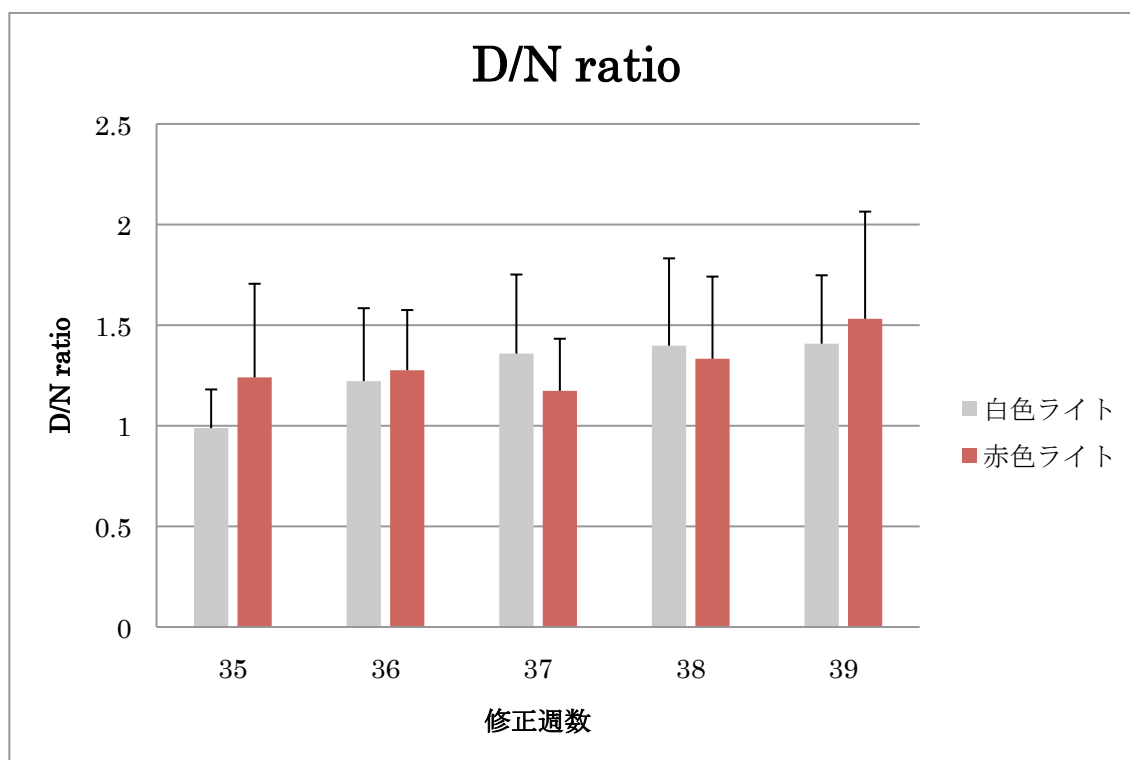


図 3 D/N ratio (修正週数毎の比較)

修正 35, 36, 37, 38, 39 週のそれぞれ 7 日間の D/N ratio の平均値をグラフ化した。灰色のバーは対照群(白色 LED ライト群)、赤色のバーは介入群(赤色 LED ライト群)である。いずれの週数においても、対照群(白色 LED ライト群)と介入群(赤色 LED ライト群)に有意差を認めなかった。(t test; $p > 0.05$)

修正 35 週を除いて、どの週数においても両群で D/N ratio > 1.0 となり、介入開始以前から活動量の日内リズムが生まれている事がわかる。

各群のデータは以下であった。

修正 35 週: 対照群 0.99 ± 0.19 、介入群 1.24 ± 0.47 。

修正 36 週: 対照群 1.22 ± 0.36 、介入群 1.28 ± 0.30 。

修正 37 週: 対照群 1.36 ± 0.39 、介入群 1.17 ± 0.26 。

修正 38 週: 対照群 1.39 ± 0.43 、介入群 1.33 ± 0.40 。

修正 39 週: 対照群 1.41 ± 0.34 、介入群 1.53 ± 0.53 。

次に、D/N ratio > 1.0 の割合を、両群間で比較したところ、下記のようになった(表 4)。修正 35 週時点で両群とも半数以上が D/N ratio > 1.0 であり、週数が増えるにつれ、両群ともに D/N ratio > 1.0 の割合が増加していた。

表 4 D/N ratio > 1.0 の割合

	対照群(白色 LED ライト群)	介入群(赤色 LED ライト群)
修正 35 週	56% (5/9)	60% (6/10)
修正 36 週	78% (14/18)	79% (11/14)
修正 37 週	82% (14/17)	73% (11/15)
修正 38 週	80% (12/15)	77% (10/13)
修正 39 週	86% (12/14)	77% (10/13)

4. 夜間啼泣回数の解析

4.1 夜間啼泣回数

それぞれの対象患者のデータから、修正 35 週から修正 39 週までのデータを集めて週数毎に解析を行った。対照群(白色 LED ライト群)と介入群(赤色 LED ライト群)において、夜間(午後 9 時～午前 6 時)啼泣回数に有意差を認めなかった(図 4)。

4.2 各群間での夜間啼泣回数の比較 (図 4)

対照群(白色 LED ライト群)・介入群(赤色 LED ライト群)の各群における、夜間啼泣回数の経時的な変化を評価する為、repeated measures analysis を各群の修正 35, 36, 37, 38, 39 週で行った。修正 35 週と 39 週の比較において、夜間啼泣回数は両群ともに有意な上昇を認めた(one-way ANOVA followed by Dunnett's test; 対照群: $p < 0.01$, 介入群: $p < 0.05$)。また、その他の各週数毎の各群の群間比較では、いずれも有意差を認めなかった(one-way ANOVA followed by Dunnett's test; 対照群: $p > 0.05$, 介入群: $p > 0.05$)。

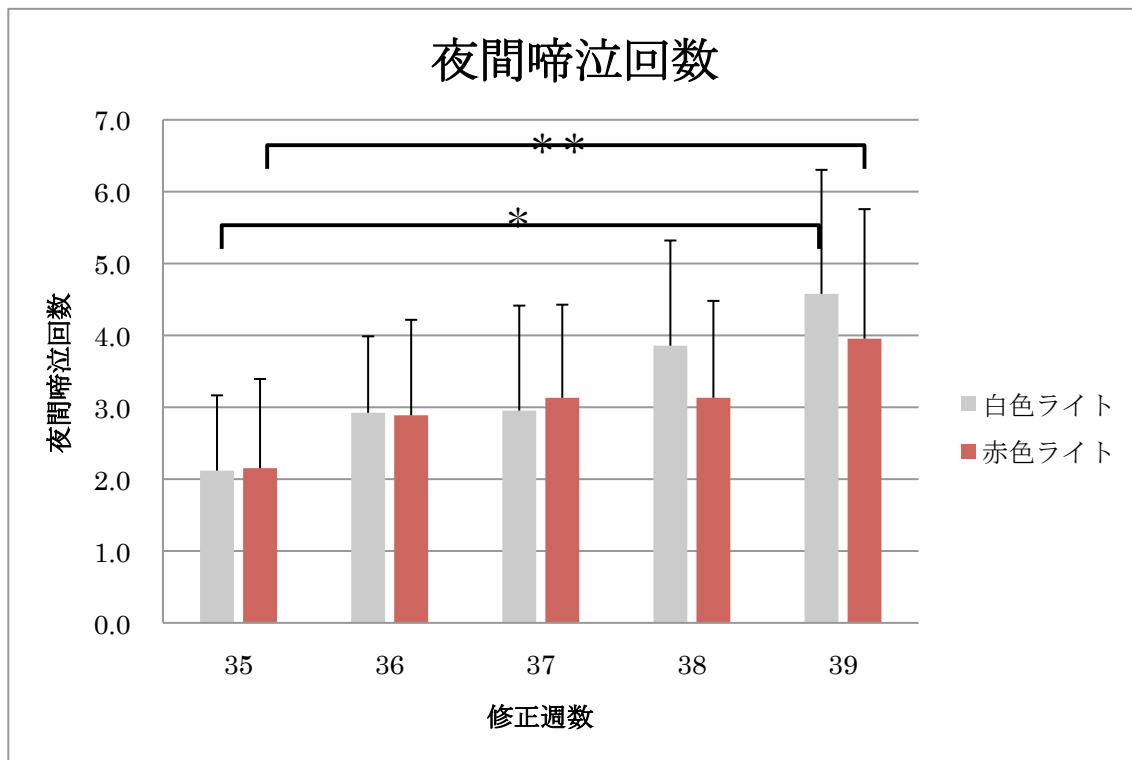


図 4 夜間啼泣回数(修正週数毎の比較)

修正 35, 36, 37, 38, 39 週の、それぞれ 7 日間毎の夜間啼泣回数の平均値をグラフ化した。灰色のバーは対照群(白色 LED ライト群)、赤色のバーは介入群(赤色 LED ライト群)である。いずれの週数においても、対照群と介入群で夜間啼泣回数に有意差を認めなかった。(t test; $p > 0.05$)

群間比較において、対照群(白色 LED ライト群)、介入群双方で、修正 35 週と 39 週の比較において、夜間啼泣回数は有意な上昇を示した。(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ by Dunnett's test comparison)

各群のデータは以下であった。

修正 35 週: 対照群 2.1 ± 1.0 回/夜、介入群 2.2 ± 1.2 回/夜。

修正 36 週: 対照群 2.9 ± 1.1 回/夜、介入群 2.9 ± 1.3 回/夜。

修正 37 週: 対照群 3.0 ± 1.5 回/夜、介入群 3.1 ± 1.3 回/夜。

修正 38 週: 対照群 3.9 ± 1.5 回/夜、介入群 3.1 ± 1.3 回/夜。

修正 39 週: 対照群 4.6 ± 1.7 回/夜、介入群 4.0 ± 1.8 回/夜。

5. 成長発育の解析

対照群(白色 LED ライト群)と介入群(赤色 LED ライト群)のそれぞれの児において、体重・身長・頭囲を比較した。

5.1 体重

介入開始時から介入終了時までの、1日あたりの体重増加を比較した。対照群(白色 LED ライト群)と介入群(赤色 LED ライト群)において、1日あたりの体重増加に有意差を認めなかった。(表 5)

5.2 身長

介入開始時から介入終了時までの、1日あたりの身長増加を比較した。対照群(白色 LED ライト群)と介入群(赤色 LED ライト群)において、1日あたりの体重増加に有意差を認めなかった。(表 5)

5.3 頭囲

介入開始時から介入終了時までの、1日あたりの身長増加を比較した。対照群(白色 LED ライト群)と介入群(赤色 LED ライト群)において、1日あたりの体重増加に有意差を認めなかった。(表 5)

表 5 体重・身長・頭囲の介入開始時から終了時にかけての 1 日あたりの増加量

	対照群(白色 LED ライト群)	介入群(赤色 LED ライト群)
介入期間の体重増加(+g/day)	32.7 ± 6.6	32.0 ± 4.7
介入期間の身長増加(+g/day)	0.17 ± 0.07	0.16 ± 0.05
介入期間の頭囲増加(+g/day)	0.14 ± 0.06	0.13 ± 0.04

(t test; $p > 0.05$)

考察

今回我々は、明暗環境下にある早産児に対して、夜間に短時間の光曝露を行う事がサーカディアンリズムに与える影響について初めて報告した。その結果、15 時間-9 時間周期の明暗環境下にある GCU において、授乳やおむつ交換などの夜間処置時に、白色 LED・赤色 LED ライトいずれを使用しても、活動量の日内リズムとして $D/N \text{ ratio} > 1.0$ で示される睡眠覚醒パターン、夜間啼泣回数、身体発育に影響を及ぼさなかった。すなわち、上記明暗環境下の GCU においては、哺乳やおむつ交換などの夜間処置時に短時間で使用する限りは、白色ライトを使用しても $D/N \text{ ratio}$ が低下するほどの睡眠覚醒パターンの乱れは起きず早産児に対して悪影響を与えなかった。これは、明暗環境下において、短時間数回の夜間光刺激は早産児の活動性・睡眠覚醒パターンに代表されるサーカディアンリズムに影響を与えなかった事を示す結果であり、本研究により初めて明らかにされた事実である。

しかし、これは我々の予想と異なる結果であった。赤色 LED ライトは $725 \pm 50 \text{ nm}$ のほぼ単波長で構成されたライトであり、早産児の眼で知覚できる波長の外にある。一方、白色 LED ライトは早産児にも知覚できる波長も含めて、幅広い波長から構成されている²⁷。だからこそ我々は、白色 LED ライトは赤色 LED ライトに比較して、夜間の睡眠覚醒リズムを乱し、夜間啼泣回数を増やし、体重増加が悪いと予測した。しかし、結果は予測に反し、それらに影響を及ぼさなかった。

なお、夜間活動量・日中活動量の双方で、赤色 LED ライト群の活動量が低い傾向にあり、夜間活動量では修正 35 週、38 週で、日中活動量では修正 38 週で有意に赤色ライト群の活動量が低かった。夜間・日中双方の活動量が低下しており、 $D/N \text{ ratio}$ には影響を及ぼさなかった。介入開始時点で両群の患者背景に有意差はなく、均質な集団であると考えられるため、赤色ライト群は夜間の光刺激を減らすことで夜間活動量のみならず日中活動量を減らしている可能性が考えられた。しかし $D/N \text{ ratio}$ には変化がなく、睡眠覚醒パターンに影響を及ぼすような効果は認められなかった。

恒暗環境におけるヒト成人の研究では、夜間に白色光に曝露されると、生物時計は影響を受ける事が明らかとなっている²⁸。Canton らは、4000 lux の光を夜

間後期に2時間照射すると、メラトニン分泌のサーカディアンリズムを約1.5時間後退させることを報告した²⁹。また、脳波による研究では、夜間に青色光(460 nm)を2時間照射すると、REM(rapid-eye movement)睡眠を短くし、SWA(slow wave activity)パターンを変化させ、睡眠に影響を及ぼす事が明らかとなった^{30,31}。さらに、夜間に9500 luxの光を15分間、1時間間隔で曝露する事で、メラトニン分泌・体温変動におけるサーカディアンリズムを後退させることが明らかとなった²⁸。

また、夜行性動物の研究においても、ほ乳類のサーカディアンリズムは短時間の光曝露により影響を受ける事が報告されている³²。げっ歯類では、10 μ s から5分間の短時間光曝露により、サーカディアンリズムは後退する^{33,34}。夜間後期に、1000 luxの光に30分間単回曝露されると、時計遺伝子である *Period1* が発現し、サーカディアンリズムが影響を受ける^{35,36}。

このように、ヒト成人を対象とした研究においても、げっ歯類を対象とした動物実験においても、短時間の光曝露によりサーカディアンリズムは影響を受ける事がわかっているが、今回の研究では、夜間、短時間の白色ライト曝露により、活動量の昼夜差から示される睡眠覚醒パターンに対する影響は認められず、赤色ライト群の優位性は認められなかった。すなわち、サーカディアンリズムの変化に伴い最終的に影響を受けるのが睡眠覚醒パターン・活動量の昼夜差であるが、この睡眠覚醒パターンを指標としたサーカディアンリズムに関して影響は認められなかった。その原因の一つとして、背景の光環境である明暗環境がサーカディアンリズムを整える影響の方が、夜間に行う短時間の光曝露がサーカディアンリズムを乱す影響よりも大きかったためである可能性がある。本研究では両群ともに背景の光環境が明暗環境であり、その上で一時的に使用する夜間の光曝露が白色LEDライトまた赤色LEDライトのいずれかで介入した。夜間の短時間光曝露がサーカディアンリズムを乱す事を明らかにしたこれまでの研究は、ヒト成人においても動物実験においても、背景の光環境は10 lux以下の恒暗環境であり、明暗環境下よりも、短時間の光曝露がサーカディアンリズムを乱す影響がより大きくなる可能性がある。よって、本研究においては、背景の光環境が明暗環境であることによるサーカディアンリズムの調整作用が、夜間の短時間の光曝露の影響によるサーカディアンリズムを乱す作用を打ち消

したため、早産児の睡眠覚醒パターンが影響を受けなかった可能性がある。

赤色 LED ライトの優位性が見られなかったもう一つの原因として、早産児に対する赤色 LED ライトの影響を評価する上で適切なパラメーターを設定できていなかった可能性がある。例えば、コルチゾール分泌や、メラトニンの分泌抑制が、白色 LED ライト曝露により認められ、赤色 LED ライト曝露により認められない可能性が考えられる。ラットの動物実験では、波長が 452～462nm の青色光を選択的に遮断したところ、コルチコステロンの分泌を抑制し、メラトニン分泌と時計遺伝子の発現を回復させることがわかっている³⁷。

本研究において、早産児の夜間啼泣回数を測定・解析した。その結果、両群間で有意差は認めなかったが、両群ともに、週数を経るにつれて夜間啼泣回数も増加していくことが明らかとなった。Giganti F.らは、早産児は正期産児に比べ、日中よりも夜間に覚醒している事が多いと報告している³⁸。また、早産児は修正 33 週から 40 週にかけて啼泣から始まる覚醒時間が有意に増加することを報告している³⁹。これは、発達につれて覚醒度が上がり、活動性が増加する事を示している。本研究における夜間・日中活動量からも、全体としての活動性が週数を経るにつれて増加していることがわかる。これらの事は、日常臨床でも週数があがるにつれて啼泣頻度が増え、空腹時以外にも啼泣するようになってだっこ等を要求するようになるという実感にも合致している。

総括および結論

15 時間-9 時間の明暗環境下にある GCU において、夜間の授乳やおむつ交換などの処置時に、通常白色 LED ライト、早産児が知覚できない赤色 LED ライトのいずれを使用しても、早産児の睡眠覚醒パターン、夜間啼泣回数、身体発育に差を認めなかった。

3-4 時間毎で、15 分以内に行われる授乳・オムツ交換の際に光曝露があっても、明暗環境下で保育されている限りは、早産児の睡眠覚醒パターンの発達や体重増加に影響を及ぼさない可能性がある。よって、明暗環境下にある GCU においては、短時間であれば、夜間の処置時に使用する照明を控える必要はないことが示唆された。

謝辞

稿を終えるにあたり、本研究にご協力をいただきました患者様とご家族に深く感謝致します。

本研究の機会を与えてくださり、ご指導賜りました、北海道大学大学院医学研究科産科・生殖医学分野 水上尚典教授、北海道大学病院周産母子センター 長和俊診療教授、国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所知的障害研究部 太田英伸室長に深く感謝致します。本論文執筆においてご協力いただきました守屋孝洋先生、若松永憲先生、中川真智子先生に深く感謝致します。研究実施において多大なご協力をいただきました、北海道大学病院周産母子センターNICU・GCU ナースセンターの下河原みゆき師長をはじめとする看護師・助産師の皆様に深く感謝致します。新生児用 LED ライト開発において協力していただきました、アトムメディカル(株) 技術開発部 本間直樹様に、深く感謝致します。また、様々な面から研究をサポートして下さいました、盛一享徳先生、秋元琢真先生、森岡圭太先生、早坂格先生、卯月ゆたか先生にお礼申し上げます。

本研究は、科学研究費助成事業基盤研究(B)(研究課題番号 25291110)から一部援助をいただきました。また、武田科学振興財団、Opto-Science and Technology 財団から一部援助を受け行われました。

引用文献

1. Reppert, S.M. & Weaver, D.R. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* **418**, 935-941 (2002).
2. Reppert, S.M., Weaver, D.R., Rivkees, S.A. & Stopa, E.G. Putative melatonin receptors in a human biological clock. *Science* **242**, 78-81 (1998).
3. van, Eerdenburg, F.J. & Rakic, P. Early neurogenesis in the anterior hypothalamus of the rhesus monkey. *Brain Res. Dev. Brain Res.* **79**, 290-296 (1994).
4. Serón-Ferré, M. *et al.* Perinatal neuroendocrine regulation. Development of the circadian time-keeping system. *Mol. Cell Endocrinol.* **186**, 169-173 (2002).
5. Kennaway, D.J. Programming of the fetal suprachiasmatic nucleus and subsequent adult rhythmicity. *Trends Endocrinol. Metab.* **13**, 398-402 (2002).
6. Mendez, N. *et al.* Timed maternal melatonin treatment reverses circadian disruption of the fetal adrenal clock imposed by exposure to constant light. *PLoS. One.* **7**, e42713 (2012).
7. Varcoe, T.J. *et al.* Chronic phase shifts of the photoperiod throughout pregnancy programs glucose intolerance and insulin resistance in the rat. *PLoS. One.* **6**, e18504 (2011).
8. Summa, K.C., Vitaterna, M.H. & Turek, F.W. Environmental perturbation of the circadian clock disrupts pregnancy in the mouse. *PLoS. One.* **7**, e37668 (2012).
9. Bisanti, L. *et al.* Shift work and subfecundity: a European multicenter study. European Study Group on Infertility and Subfecundity. *J. Occup. Environ. Med.* **38**, 352-358 (1996).
10. Aspholm, R. *et al.* Spontaneous abortions among Finnish flight attendants. *J. Occup. Environ. Med.* **41**, 486-491 (1999).
11. Cone, J.E., Vaughan, L.M., Huete, A. & Samuels, S.J. Reproductive health outcomes among female flight attendants: an exploratory study. *J. Occup. Environ. Med.* **40**, 210-216 (1998).
12. Knutsson, A. Health disorders of shift workers. *Occup. Med. (Lond.)* **53**, 103-108 (2003).
13. Weaver, D.R. The suprachiasmatic nucleus: a 25-year retrospective. *J. Biol. Rhythms* **13**, 100-112 (1998).
14. Rivkees, S.A. Developing circadian rhythmicity in infants. *Pediatr. Endocrinol.*

- Rev.* **1**, 38-45 (2003).
15. Hattar, S. *et al.* Melanopsin and rod-cone photoreceptive systems account for all major accessory visual functions in mice. *Nature* **424**, 76-81 (2003).
 16. Zaidi, F.H. *et al.* Short-wavelength light sensitivity of circadian, pupillary, and visual awareness in humans lacking an outer retina. *Curr. Biol.* **17**, 2122-2128 (2007).
 17. Field, T.M., Woodson, R., Greenberg, R. & Cohen, D. Discrimination and imitation of facial expression by neonates. *Science* **218**, 179-181 (1982).
 18. Teller, D.Y. First glances: the vision of infants. the Friedenwald lecture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **38**, 2183-2203 (1997).
 19. Sekaran, S. *et al.* Melanopsin-dependent photoreception provides earliest light detection in the mammalian retina. *Curr. Biol.* **15**, 1099-1107 (2005).
 20. Robinson, J. & Fielder A.R. Pupillary diameter and reaction to light in preterm neonates. *Arch. Dis. Child.* **65**, 35-38 (1990).
 21. Hanita, T., Ohta, H., Matsuda, T. & Miyazawa, H. Monitoring preterm infants' vision development with light-only melanopsin is functional. *J. Pediatr.* **155**, 596-596.e1 (2009).
 22. Hao, H. & Rivkees, S.A. The biological clock of very premature primate infants is responsive to light. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **96**, 2426-2429 (1999).
 23. Rivkees, S.A., Mayes, L., Jacobs H. & Gross, I. Rest-activity patterns of premature infants are regulated by cycled lighting. *Pediatrics* **113**, 833-839 (2004).
 24. Brandon, D.H., Holditch-Davis, D. & Belyea, M. Preterm infants born at less than 31 weeks' gestation have improved growth in cycled light compared with continuous near darkness. *J. Pediatr.* **140**, 192-199 (2002).
 25. Mann, N.P. *et al.* Effect of night and day on preterm infants in a newborn nursery: randomised trial. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* **293**, 1265-1267 (1986).
 26. Morag, I. & Ohlsson, A. Cycled light in the intensive care unit for preterm and low birth weight infants. *Cochrane Database Syst. Rev.* **8**, CD006982 (2013).
 27. Watanabe, S. *et al.* Designing artificial environments for preterm infants based on circadian studies on pregnant uterus. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **4**, 113 (2013).
 28. Gronfier, C. *et al.* Efficacy of a single sequence of intermittent bright light pulses for delaying circadian phase in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **287**, E174-181 (2004).

29. Canton, J.L., Smith, M.R., Choi, H.S. & Eastman, C.I. Phase delaying the human circadian clock with a single light pulse and moderate delay of the sleep/dark episode: no influence of iris color. *J. Circadian Rhythms* **7**, 8 (2009).
30. Chellappa, S.L. *et al.* Acute exposure to evening blue-enriched light impacts on human sleep. *J. Sleep Res.* **22**, 573-580 (2013).
31. Münch, M. *et al.* Wavelength-dependent effects of evening light exposure on sleep architecture and sleep EEG power density in men. *Am. J. Physiol. Regul Integr. Comp. Physiol.* **290**, R1421-1428 (2006).
32. Nelson, D.E. & Takahashi, J.S. Sensitivity and integration in a visual pathway for circadian entrainment in the hamster (*Mesocricetus auratus*). *J. Physiol.* **439**, 115-145 (1991).
33. Arvanitogiannis, A. & Amir, S. Resetting the rat circadian clock by ultra-short light flashes. *Neurosci. Lett.* **261**, 159-162 (1999).
34. Van, Den, Pol, A.N., Cao, V. & Heller, H.C. Circadian system of mice integrates brief light stimuli. *Am. J. Physiol.* **275**, R654-657 (1998).
35. Miyake, S. *et al.* Phase-dependent responses of Per1 and Per2 genes to a light-stimulus in the suprachiasmatic nucleus of the rat. *Neurosci. Lett.* **294**, 41-44 (2000).
36. Shigeyoshi, Y. *et al.* Light-induced resetting of a mammalian circadian clock is associated with rapid induction of the mPer1 transcript. *Cell* **91**, 1043-1053 (1997).
37. Rahman, S.A., Kollara, A., Brown, T.J. & Casper, R.F. Selectively filtering short wavelengths attenuates the disruptive effects of nocturnal light on endocrine and molecular circadian phase markers in rats. *Endocrinology* **149**, 6125-6135 (2008).
38. Giganti, F. *et al.* Preterm infants prefer to be awake at night. *Neurosci. Lett.* **312**, 55-57 (2001).
39. Giganti, F., Ficca, G., Cioni, G. & Salzarulo, P. Spontaneous awakenings in preterm and term infants assessed throughout 24-h video-recordings. *Early Hum. Dev.* **82**, 435-440 (2006).