

周産期学 シンポジウム

Year Book of Japan Society of Perinatology

No.16

周産期の炎症とその周辺

- ❖ 周産期の細胞障害
 - ❖ 子宮内感染と早産
-



臍帯圧迫による胎児中枢神経細胞障害

①病態生理学的検討

東京大学医学部産婦人科、埼玉医科大学総合医療センター産婦人科²、武蔵野赤十字病院産婦人科³、
東京大学医学部医用電子学⁴、愛宕病院産婦人科⁵、国立精神・神経センター神経研究所⁶

丸茂 元三 上妻 志郎 濱井 葉子 町田 芳哉 小林 浩一¹⁾
梁 栄治²⁾ 海野 信也 馬場 一憲³⁾ 岡井 崇⁴⁾ 大湯 淳功⁵⁾
小沢 浩⁶⁾ 高嶋 幸男⁶⁾ 武谷 雄二

はじめに

近年、脳性麻痺の原因としてPVLの重要性が指摘され、PVLの発生機序を明らかにし、その予防策を確立することは極めて重要な臨床上の課題となっている。われわれはPVLの発生要因として臍帯圧迫が重要であるとの報告に注目し、臍帯圧迫の胎児循環系および活性酸素の発生に及ぼす影響について検討し、臍帯圧迫による胎児脳障害発生のメカニズムを解明することを目的として本研究を行った。

方法

妊娠112～132日の双胎5頭を含む19頭の妊娠羊を用い、24頭の羊胎仔を実験の対象とした。そのうち19頭で慢性実験モデルを作製し、16頭に臍帯圧迫を施行した。3頭はSham実験に用い、双胎未処置胎仔5頭とあわせ、計8頭をコントロールとして用いた。

準備手術としてハロセン麻酔下に母獣下腹部正中切開を施行、子宮に小切開を加え、胎仔に対し頸動脈にカテーテル、前胸部に心電電極、臍帯に圧迫用occluderを装着、子宮腔内にカテーテルを留置し、子宮壁を縫合閉鎖した。

準備手術から4日後、母獣および胎仔の状態が安定した段階で圧迫実験を行った(図1)。臍帯圧迫は完全閉塞を3分間持続させ、5分間の間隔を

置いて5回施行した。圧迫実験中は、頸動脈血液ガス、頸動脈圧、心拍数を測定し、血中過酸化脂質および局所脳血流測定のための血液採取を行った。過酸化脂質はTBA法で行い、脳血流量測定にはcolored microsphere (CMS) 法を用いた。米国E-Z, TRAC社製のCMSを頸静脈より約300万個注入し、頸動脈から基準血液として2 ml/minの速度で140秒間持続採血した。血流量は基準血液中のCMSの量と脳各部位の組織に含まれるCMSの量から算出した。

圧迫実験後原則として約1日を経て、帝王切開にて胎仔を取り出し、組織血流量、組織過酸化脂質の測定と病理学的検索のための脳各部位を採取した。病理学的検索については、左側大脳半球、小脳、脳幹を4%paraform aldehyde固定液で浸潤固定し、パラフィン包埋後、4 μm厚の切片を作製し、hematoxylin-eosin(HE)染色、Klüver-Barera (KB) 染色と、抗APP695抗体を一次抗体としたABC法免疫組織化学染色を行った。さらに、抗glial fibrillary acidic protein(GFAP)抗体、抗

図1 臍帯圧迫のプロトコール

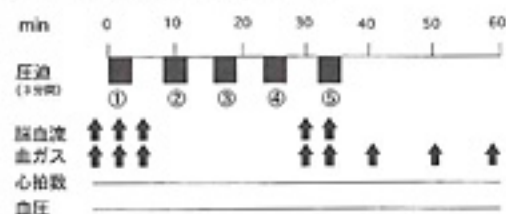
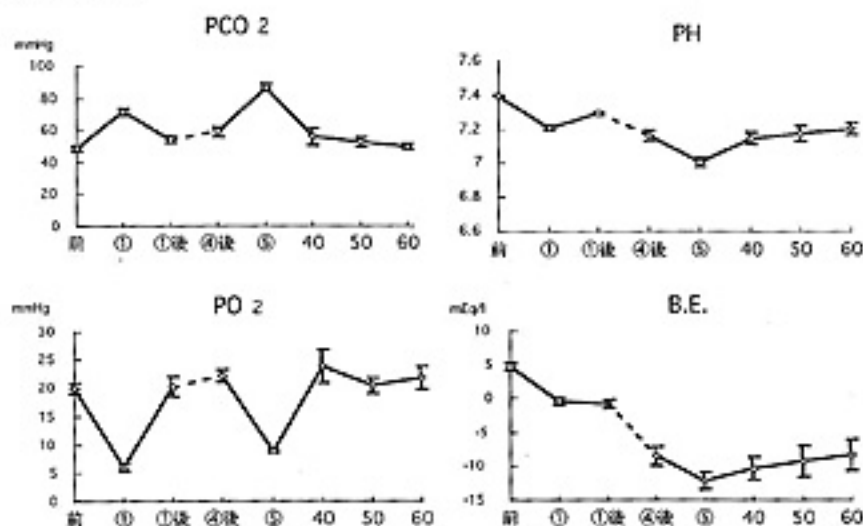


図2 頸動脈血液ガス



ionized calcium binding adapter molecule 1(Iba-1)抗体, 抗tumor necrosis factor(TNF- α)抗体, 抗cyclo-oxygenase-2(COX-2)抗体, 抗inducible nitric oxide(iNOS)抗体による免疫組織化学的染色を行い, 病変におけるグリア細胞の役割を検討した(病理学的検索の結果については「②病理組織学的検討」を参照のこと)。

まず, 肩胛帯圧迫による胎仔循環系および活性酸素の発生に及ぼす影響を明らかにするため, 圧迫前の状態が良好と判定された11例について, 頸動脈血血液ガス, 頸動脈圧, 心拍数, 血中過酸化脂質および脳局所血流の変化について検討した。次いで, 脳病変を認めた群と認めなかった群との相違点について検討した。

結果

■ 肩胛帯圧迫による胎仔循環系および活性酸素の発生に及ぼす影響

a. 血液ガス

PCO₂は第1回圧迫で上昇, PO₂は低下し, 圧迫解除により速やかに回復した。5回目圧迫でも同様な変化を示した。pHは5回の圧迫で7.39±0.01から7.00±0.05まで低下し, 圧迫を繰り返すこと

にacidosisは進行した(図2)。

b. 心拍数と血圧

心拍数は圧迫により徐脈, 解除により回復し頻脈となり, 5回の圧迫中はほぼ同様のパターンを示した。血圧は圧迫初期には上昇したが, 圧迫の持続により低下し, 解除で回復した。5回の圧迫中同様な変化を繰り返しながら, 全体としては低下傾向を示した(図3)。

c. 脳局所血流

大脳白質の血流量は低値を, 脳幹の血流量は高値を示し, 大脳皮質, 小脳はその中間であった。圧迫に伴う変化は各部位とも同様のパターンを示し, 第1回目の圧迫中は血流変化に一定の傾向が認められなかったが, 圧迫解除後には血流が増加し, 大脳皮質, 白質では有意な上昇が認められた。第4回圧迫解除後の血流量は, 第1回圧迫解除後に比べすべての部位で有意に低値を示した。第5回圧迫中の変化は, 第1回の圧迫中と同様であった(図4)。

d. 過酸化脂質

血中過酸化脂質は肩胛帯圧迫により増加傾向が認められ, 圧迫終了後は速やかに低下した(図5)。脳組織では圧迫群で過酸化脂質の増加傾向がみられ, 小脳, 脳幹では有意差が認められた(図6)。

図3 心拍数と血圧

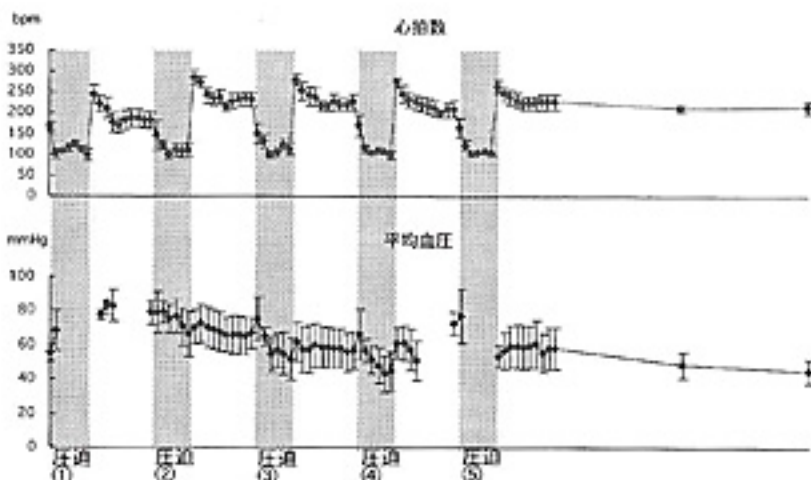


図4 局所脳血流

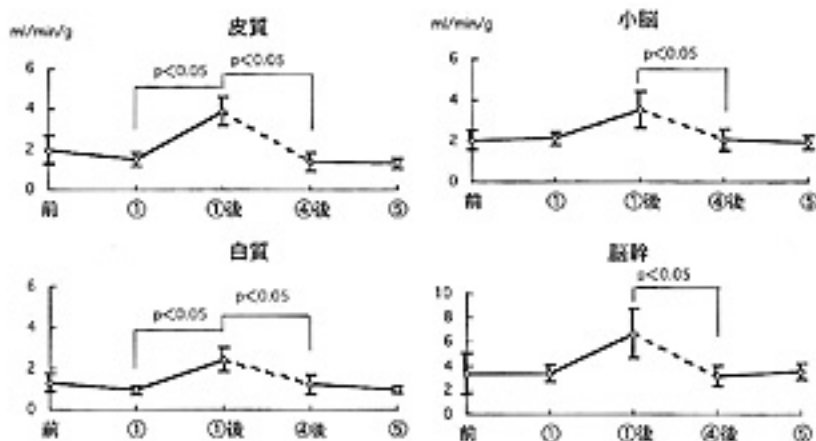


図5 血中過酸化脂質

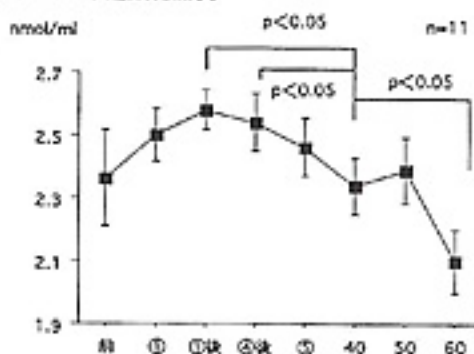


図6 組織過酸化脂質

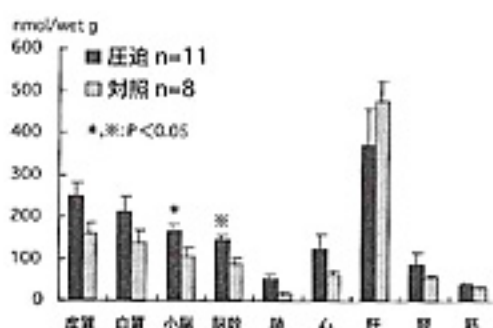


図7 白質病変の有無と血中過酸化脂質

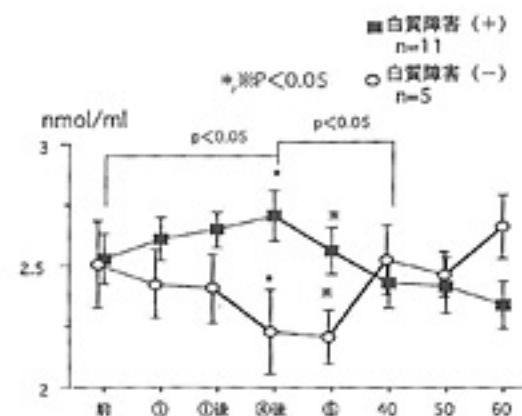
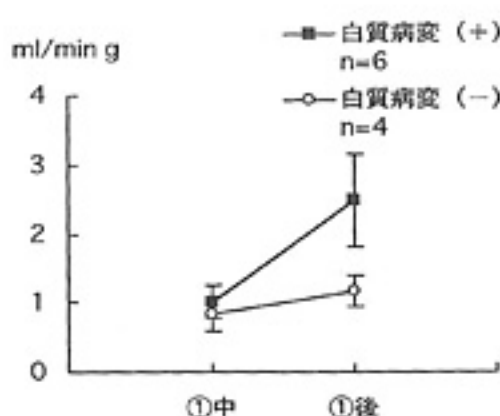


図8 白質病変の有無と局所血流



白質障害の発生要因に関する検討

臍帯圧迫を施行した16例中11例に白質病変が認められた。白質病変(+)群では、血中過酸化脂質は臍帯圧迫に伴い有意に上昇し、圧迫終了後速やかに低下したが、白質病変(-)群では上昇は認められず、第4回圧迫後および第5回圧迫中は(+)群より有意に低値を示した(図7)。第4回圧迫終了後のPCO₂値が65mmHgを上回ったもの7例全例に白質病変が認められ、65mmHg以下群に比べ白質病変の発生頻度は有意に高く、血中過酸化脂質の増加も両群間で差が認められた。心拍数・血圧の変化およびacidosisの程度と白質病変の発生には相関が認められなかった。

白質病変(+)群では第1回臍帯圧迫における解除後血流増加が白質病変(-)群より高度である傾向を認めた(図8)。

考察

本研究においては、臍帯圧迫を施行した16例中11例に中枢神経組織障害が認められ、その病変は大脳白質を中心として皮質、視床など広範囲に存在した(詳細は他稿を参照のこと)。臨床的に認められる脳室周囲白質軟化症(PVL)のような限局した病変を示したものは3例のみであり、本研究に

おいて行った臍帯圧迫法はPVLの原因となるものよりも高度な負荷であったと思われる。Clappらは、3分間隔で1分間の臍帯閉塞を2時間連続して行い、白質に限局した病変を認めたと報告している⁹⁾。Clappらのもではacidosisを認めなかったが、本研究で行った3分間の臍帯反復圧迫においてはacidosisの進行が明らかに認められ、これが皮質や視床の病変と関係している可能性がある。一方、Mallardらは、10分間の圧迫あるいは5分間の圧迫を加え、それぞれ海馬、線条体を中心に病変が認められたと報告している²⁰⁾。本研究においては、海馬や線条体の病変は少なく、それらは低酸素状態が長く持続することにより発生する病変であると考えられる。

臍帯圧迫による血液ガス、心拍数の反応は圧迫の反復により大きな変化を示さなかったが、acidosisは進行し、血圧は低下する傾向を示した。脳血流に関しては、1回目の圧迫解除後には著しい増加が認められたが、4回目圧迫解除後には認められず、このような圧迫解除後における脳血流の増加が圧迫の反復により認められなくなる現象は、acidosisの進行や血圧の低下と関連があるものと思われる。Myersらによると、acidosisを伴わない低酸素症では白質を中心とした病変が認められる⁹⁾。acidosisが進行すると脳血流の変動が少な

くなり、一方ではacidosisの存在により白質病変が認められにくくなることから、両者に関連があるとすると、白質病変の発生には脳血流の変動が重要な役割を果たしていることが推察される。

白質病変の発生に関わる因子についての検討では、病変を認めた群で血中過酸化脂質が有意に高値を示すことから、フリーラジカルが病変発生に重要な役割を果たしていると考えられる。フリーラジカルは虚血再循環の際に発生しやすくなることが知られており、臍帯圧迫に伴う低酸素状態とその後の著しい血流増加は、フリーラジカル発生

に関与していると考えられる。白質病変(+)群では、第1回臍帯圧迫における解除後血流増加が白質病変(-)群より高度である傾向を認めたことも、関連する現象であると考えられる。

本研究により、3分間持続する5回の臍帯圧迫は白質優位の脳病変をもたらすことが明らかとなり、臍帯圧迫と解除を繰り返すことにより脳血流が大きく変動し、それに伴い発生するフリーラジカルが脳障害発生に関与している可能性が示された。

文 献

- 1) Clapp JF, Feress NS, Wesley M, Maan LI: Brain damage after intermittent partial cord occlusion in the chronically instrumented fetal lamb. *Am J Obstet Gynecol*, 159: 504-509, 1988.
- 2) Mallard EC, Gunn AJ, Williams CE, Johnston BM, Gluckman PD: Transient umbilical cord occlusion causes hippocampal damage in the fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*, 167: 1423-1430, 1992.
- 3) Mallard EC, Williams CE, Johnston BM, Gunning MI, Davis S, Gluckman PD: Repeated episodes of umbilical cord occlusion in fetal sheep lead to preferential damage to the striatum and sensitize the heart to further insults. *Pediat Res*, 37: 707-713, 1995.
- 4) Myers RE: Four patterns of perinatal brain damage and their conditions of occurrence in primate. *Adv Neurol*, 10: 223-234, 1975.