

5. 脳組織発達の異常と SIDS —SIDS と脳幹部の障害との関連に関する研究—

滋賀医科大学小児科

島田 司己、田中 和彦、宇都宮琢史、山野 恒一

1. 緒言

SIDS の成因や病理に関しては既に多くの研究がなされ諸説が呈示されてきたが、いづれに対しても、なお異論が多い。このような状況の中でも、これまでの多数例の臨床及び剖検材料の詳細な検索から、最近、呼吸・循環器系と、それを統禦する中枢の異常に問題が絞られつつあるように思われる。我々はこの点に注目し、新生仔・乳仔期早期に hexachlorophene 塗布により脳幹部を障害された仔マウスを SIDS の実験モデルとして、種々の異常は環境要因（低酸素、寒冷など）が、これらのモデルマウスに及ぼす影響を検索した。

2. 実験材料および方法

本実験には実験動物と剖検ヒト脳とを用いた。

1) SIDS の実験モデル作成

本実験には ICR-JCL 系の新生仔マウスを用いた。脳幹部における病変作成には、hexachlorophene (HCP) を 3% 水溶液とし、新生仔もしくは乳仔マウスの頭部を除く全身にこれを塗布した。塗布後流水中で洗い、これを拭きとり、保温、乾燥させた。まず、HCP 塗布後における脳幹部病変の経時的变化を観察すべく、生後 8 日目の乳仔マウスに HCP を塗布した。塗布後 1、3、6、12、24、48、96 時間目に各々 5 匹ずつ屠殺し、矢状断面にて脳幹部病変を観察した。次に HCP 塗布時期と脳幹部病変との関係を検索する目的で、生後 1 日目より 15 日目までの新生仔および乳仔マウスに HCP を塗布した。塗布後 48 時間目に屠殺し、矢状断面の連続切片を作成し、脳幹部における病変の有無とその程度を観察した。なお組織学的検索には、脳をブアン液にて固定、パラフィン切片を作成し、H・E 染色をほどこした後検鏡した。さらに、乳仔マウスを 2 群に分け、実験群には生後 8 日目に HCP を塗布した。一方、対照群には生理的食塩水を塗布した。これらマウスを生後 15 日目に低酸素状態に置き、低酸素状態に対する抵抗性を比較検討した。即ち、一側より 1 l/min の窒素を流入し、これに伴い他側より容器内の空気が流出され、低酸素状態が保たれるように工夫したガラス性の容器を作成した。生後 15 日目に実験群と対照群の乳仔マウスを同一容器に入れ、低酸素状態にした。低酸素状態における乳仔マウスを注意深く観察し、無呼吸、チアノーゼ、心搏停止を確認した時点で通気し、容器外へ取り出し、蘇生しうるか否かを観察し、低酸素状態に対する抵抗性を比較検討した。

2) 剖検ヒト脳の検索

法医解剖により得られた SIDS 患児 3 例 (7 ヶ月女児、2 才男児、4 ヶ月男児) の脳幹部を研究対象とした。

各症例とも H・E 染色にて検索するとともに、免疫組織化学的に myelin basic protein (MBP) と glial fibrillary acidic protein (GFA) を染色した。免疫組織化学は木村による PAP 法を用いた。即ち、20 μ のパラフィン切片を作成し、キシロールで脱パラフィン後、0.3% Triton X-100 を含む PBS (0.3% PBST) に浮遊させ、4 日間以上保存した。次に 0.3% PBST で稀釈した第一抗体 (抗 MBP もしくは抗 GFA) 溶液に切片を移し、4 $^{\circ}$ C で 10 日間反応させた。その後、0.3% PBST で洗浄し、0.3% PBST で稀釈した第二抗体 (抗家免 IgG) 溶液に切片を移し、4 $^{\circ}$ C で一昼夜反応させた。0.3% PBST で洗浄後、さらに稀釈したペルオキシダーゼ・抗ペルオキシダーゼ複合体 (PAP) 溶液で室温にて 3 時間反応させた。洗浄後 0.02% ジアミノベンチデンと 0.003% H₂O₂ (0.05M Tris buffer, pH7.6) で、室温にて 10 分間反応させた。ゼラチン処置スライドガラスに貼付後、型の如く脱水、透徹、封入を行い永久標本にした。

3. 結果

生後 8 日目の乳仔マウスに HCP を塗布した後の脳病変の経時的変化は以下の如くである。HCP 塗布後 1、3、6 時間目の脳には何ら病変は認められなかった。一方、塗布後 12 時間目になると、一部のマウスの脳幹部が浮腫状となり、塗布後 24 時間目になると、全てのマウスで脳幹部に海綿状変性が認められた (図 1)。塗布後 48 時間目になると、脳幹部における海綿状変性はさらに著明となり、一部のマウスにおいては小脳にもそれが認められるようになった。塗布後 48 時間目以降は 72~96 時間目でも病変に大きな変化はみられなかった。従って以下の組織学的検索には塗布後 48 時間目の病変をもって比較検討した。

HCP 塗布時期と脳幹部病変との関係は表 1 に示した如くである。塗布後 48 時間目の脳幹部における病変の強さを、弱拡大 ($\times 40$) にて判然と海綿状変性が認められるものを強度障害、強拡大 ($\times 200$) にて変性が明らかとなるものを軽度障害 (+) とすると、生後 5 日目までに塗布した場合、変性は全く認められなかった。生後 6 日目に塗布した場合 7 匹中 3 匹に、また生後 7 日目に塗布した場合には全てのマウスに障害が認められた。生後 7 日目群のうち 2 匹に強度の変性が認められた。さらに生後 8 日目に塗布した場合にも全てのマウスに病変が認められたが、この群では 7 匹中 5 匹に強度の海綿状変性が認められた。生後 9 日目以降に塗布された場合、全例に強度の海綿状変性が認められた。

HCP 塗布後 48 時間以内の死亡についてみると、生後 8 日目までに塗布した群では死亡したマウスは認められなかった。一方、生後 9 日目に塗布した場合、11 匹中 7 匹が、さらに生後 10 日目以後に塗布した群では 80% 以上のマウスが死亡した (表 2)。



図1 脳幹部の海綿状変化

表1 HCP 塗布後48時間の脳幹部における海綿状変性の強さ

Age in day treated	Severity						
1	-	-	-	-	-		
2	-	-	-	-	-		
3	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-		
5	-	-	-	-	-		
6	+	+	-	+	-	-	-
7	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+				
10	+	+					
11	+						
12	+						
13	+						
14	+						
15	+						

表2 HCP 塗布日と塗布後48時間以内の死亡率

Age in days treated	n	death (%)
1	8	0
2	7	0
3	8	0
4	9	0
5	10	0
6	15	0
7	12	0
8	12	0
9	11	64
10	13	92
11	12	83
12	10	90
13	10	80
14	9	89
15	15	93

以上の結果より、以下の実験には脳幹部病変が確実に惹起され、かつ死亡率が低い生後8日目のHCP塗布乳仔マウスを用いた。

生後8日目にHCPを塗布した乳仔マウスを実験群、生理的食塩水を塗布したものを対照群として、生後15日目に低酸素状態に対する抵抗性を比較検討した結果は表3に示した如くである。実験群は対照群に比べ低酸素状態に対する抵抗性が低下していた。即ち、12～13分間低酸素状態に置かれた場合、対照群では22匹中6匹(27.3%)が死亡したのに対し、実験群では26匹中18匹(69.2%)が死亡し、対照群の2倍の死亡率を呈した。

表3 低酸素下における死亡率(生後15日目)

	n	alive	dead	death rate %
HCP	26	8	18	69.2
Control	22	16	6	27.3

なお、1 l/min の窒素ガスを流入した場合、3分間以内に容器内の酸素濃度は2%以下となった。

剖検脳所見：SIDS 患児3例の剖検脳よりの脳幹部をHE染色にて検索したが、軽度なグリア増殖以外には特別な異常所見は認められなかった。また免疫組織化学的にMBPを染色したが、いずれの症例においても構築異常や髄鞘形成の異常、髄鞘の断裂等の異常所見は認め得なかった(図2)。GFA染色ではGFA陽性の星状神経膠細胞をあざやかに染め出すことができたが、病的といえるほどの増加はみられなかった(図3)。

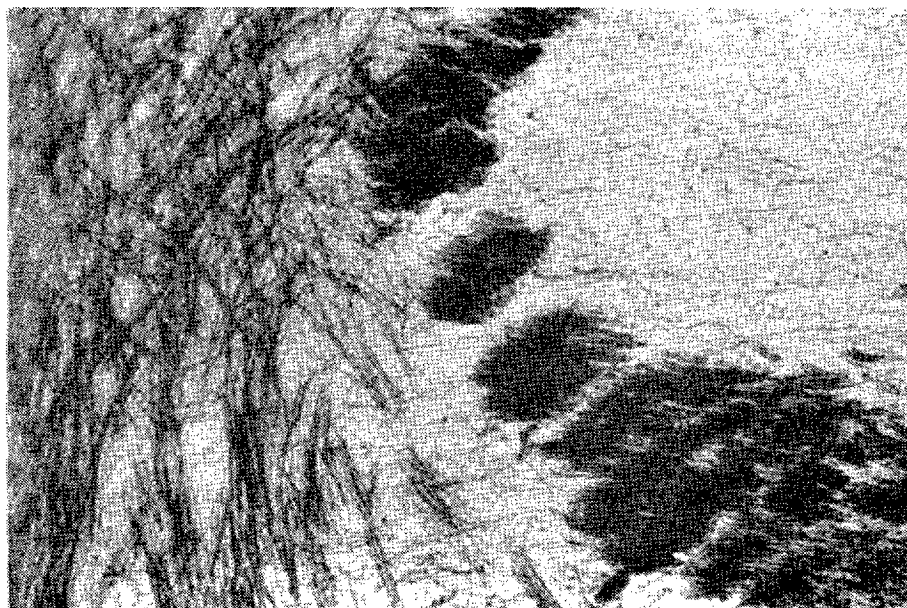


図2 M B P 染色

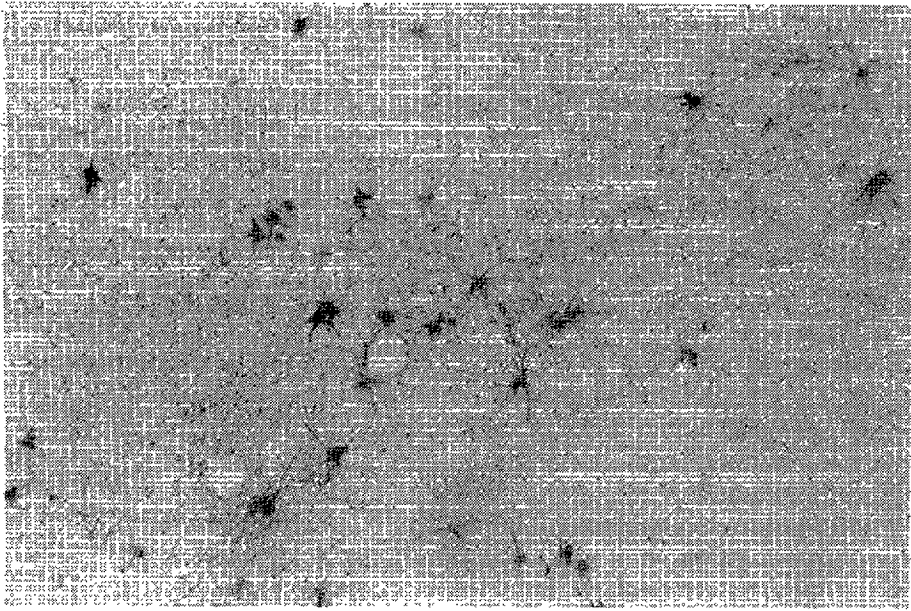


図3 G F A 染色

4. 考 察

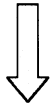
乳仔期に使用された hexachlorophen の中枢神経系、特に脳幹部や小脳に対する毒性については、ラットやマウスにおいて多くの報告がなされている。われわれが今回示し得た HCP による白質の海綿状変性の部位、およびこれを起こし得る時期に関しては、ほぼ従来の報告と一致していた。HCP による神経障害は髄鞘が進んでいる部位が髄鞘化の不十分な部位より強く障害されることが明らかにされている。生後5日目以内に処置した場合変性を認め得なかったが、これは生後5日目以前のマウスにおいては髄鞘化が脳幹部のごく一部と脊髄の一部に限られていることによると考えられる。従来大脳白質にも海綿状変性を認めるとする報告が多かったが、生後8日目に処置した乳仔マウスでは変性は脳幹部と小脳の一部のみに限局していた。この違いは処置を行う時期が異なるためであり、生後8日目の乳仔マウスではまだ大脳まで髄鞘化が進んでいないことが示唆された。

SIDS の成因や病理に関しては漠大な研究がなされているが、なお確たる結果が得られていない。しかし、最近慢性低酸素症と脳幹部の異常が組織学的に明らかにされ、また、sleep apnea や central apnea についても積極的に検索され、呼吸中枢や循環器系の中枢、さらには、これらを統禦する高位中枢の異常に問題が向けられている。今回の実験では、HCP による脳幹部障害を有する仔マウスは同一の低酸素環境で対照群に比べ著しく高い死亡率を示した。この結果は、あらかじめ呼吸中枢に何らかの異常のある場合に、他の増悪因子が作用すると、それに打ち勝つ feed back が得られないことが一因とする、われわれの推測を裏づけるものである。

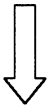
HCPの毒性が明らかにされて以来、ファイズヘックスは発売中止になり、新生児の沐浴に使用されなくなったが、これが多用されていた10年前と現在とで、SIDSの発生頻度に差があるか否かを調査できれば、HCP—脳幹障害とSIDSの関与の有無も明白となるものと思われる。

SIDS例において、脳幹部の異常を追試する目的で3例の剖検材料について組織学的および酵素組織化学的に検索したが、軽度のグリア増生を一部に認めた以外、脳幹部には著変はみられなかった。しかし、症例数が少ない上、対照との詳細な比較ができていないので、さらに症例数を集め対照との詳細な比較検討が必要である。

今回我々はパラフィン包埋された剖検脳において免疫組織化学的にMBPとGFAとを染め出すことができた。このことは、剖検脳の固定の条件が良好であれば、パラフィン包埋切片においても、MBPとGFAに関しては検索が可能であることを示しており、前方視的ばかりでなく、過去の剖検脳を用いた後方視的な研究も可能であることを示した。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



1. 緒言

SIDS の成因や病理に関しては既に多くの研究がなされ諸説が呈示されてきたが、いづれに対しても、なお異論が多い。このような状況の中でも、これまでの多数例の臨床及び剖検材料の詳細な検索から、最近、呼吸・循環器系と、それを統禦する中枢の異常に問題が絞られつつあるように思われる。我々はこの点に注目し、新生仔・乳仔期早期に hexachlorophene 塗布により脳幹部を障害された仔マウスを SIDS の実験モデルとして、種々の異常は環境要因(低酸素、寒冷など)が、これらのモデルマウスに及ぼす影響を検索した。