

ラット新生仔の実験的頭蓋内出血と脳血管構築

日本医科大学産婦人科

越 野 立 夫, 西 島 重 光
河 合 尚 基, 山 口 暁

研 究 目 的

新生児の頭蓋内出血は分娩時の低酸素症が最も重要な因子であり、これに児の未熟性が加わったときにその発生頻度は高くなることは良く知られている。そこで昨年度はラットを用いて正常満期産仔と、胎内環境の異った満期 IUGR 仔を作成し、これに低酸素負荷をかけたときの脳血管パターンについて、墨汁注入透明標本で観察した。その結果、正常新生仔で低酸素負荷を加えないときの脳血管パターンを比較してみると、低酸素負荷によって、正常新生仔も、IUGR 仔も網目状の毛細血管像の消失、静脈系の拡張、脈絡叢毛細血管のうっ血による腫大などがみられたが、明白な出血巣は認められなかった。しかしながら IUGR 仔ではその変化が強い所見が得られた。そこで今年度は脳血管の未熟性とはいかなるものか検討するために、生後 0 日目の満期産仔、満期 IUGR 仔、妊娠 19 日目、妊娠 17 日目の未熟仔を用いて、低酸素負荷を加えたときの血管パターン及び脳室内出血の有無を観察し、さらに血管構築面から未熟血管について検索を行うこととした。

実験材料及び方法

1. 実験材料

生後 3 カ月前後の Wistar 系メスラット 200 ♀ ~ 250 ♀ 前後のものを一晚交配させ、交配日を妊娠 0 日とした。その後メスラットは別々のケージに入れ、十分な水と繁殖用固型飼料により飼育した。妊娠 22 日に自然分娩した新生仔を生後 0 日目、妊娠 19 日目及び 17 日目にエーテル麻酔下に開腹して、帝王切開にて得られた新生仔を各々、妊娠 19 日目新生仔、妊娠 17 日目新生仔とした。さらに子宮動脈結紮法により IUGR 仔を作成した。

2. 墨汁注入方法

生後 0 日目及び妊娠 19 日目新生仔、IUGR 仔

は頸静脈より、0.05ml の上質墨汁を慎重に注入した。妊娠 17 日目新生仔は頸静脈からの墨汁注入は不可能なので、帝王切開時に胎盤がまだ子宮壁より剝離する前に、臍静脈より墨汁 0.02ml を慎重に注入した。

3. 低酸素負荷の方法

前年度と同様に、窒素ガスによって酸素濃度 1.7 % 10 分間の低酸素負荷を得られた新生仔に墨汁注入後に加えた。

4. 脳血管透明標本の作り方と観察方法

脳血管観察のための透明標本の作成はドライアイスメタノール法により急速凍結固定を 2 ~ 3 日行い、その後頭部を切断してからサリチル酸メチルにて透明標本とした。脳透明標本は全体像で実体顕微鏡下で検鏡後、前後左右から写真撮影した。その後実体顕微鏡下で脳実質を崩し、血管構築、特に脳室内、脈絡叢について詳細に観察した。

5. ラテックス注入による血管構築の観察法

生後 3 週目のラット、生後 0 日目、妊娠 19 日目、17 日目のラット新生仔をエーテル麻酔下に開胸し、左心室より、カルミン着色、あるいはリキテックス(アクリル系色素)着色したラテックス(ネオプレンラテックス 601-A, 粒子直径 50 ~ 190 m μ , 平均 120 m μ) を 0.05ml ~ 0.02ml 慎重に注入した。その後たゞちにホルマリン固定を行った。固定 2 ~ 3 日後に実体顕微鏡下で頭蓋骨を剝離し、まず Willis ring の血管構築、特に前交通枝と後交通枝の形態を観察し写真撮影を行った。

次に脳実質を崩し、前脈絡叢動脈の起始部から脈絡叢に達するまでの形態を観察した。さらに脳実質を崩し、側脳室を開放して、脈絡叢組織の毛細血管を実体顕微鏡下で立体的に観察後写真撮影を行った。

実験成績

1. 透明標本による脳血管全体像について

昨年度は正常満期新生仔と IUGR 仔に低酸素負荷を加えたときの血管パターンの観察を行い、明白な脳室内出血は認められなかった。そこで今回は妊娠19日目、17日目のより未熟な新生仔に低酸素負荷を加えて検討した。

その結果、妊娠19日目の新生仔では一部脳実質内出血がみられたが軽微であった。しかし妊娠17日目では全体像からでもよく分る脳室内出血、実質内出血、著明な血管拡張が認められた。この所見は低酸素負荷を加えないものや、生後0日目、満期 IUGR 仔、妊娠19日目などでは全く認められない変化であった(写真1)。

2. 透明標本による側脳室と脈絡叢の観察

生後0日目及び妊娠19日目の新生仔では側脳室には低酸素負荷の有無にかかわらず、出血はみられなかった。脈絡叢の血管は低酸素負荷が加わらないものでは明瞭な血管パターンが認められた(写真2)。

しかし妊娠17日目の新生仔に低酸素負荷を加えたものでは写真3のごとく明瞭に側脳室内に出血を来たしていた。この脈絡叢を観察すると写真4のごとく、ほとんど脈絡叢は破壊され、凝血塊で満たされており、脈絡叢の形態も不明である。この所見は明らかに脳室内出血と思われた。

3. ラテックス注入による脳血管構築の観察

生後3週間目の正常成熟ラットの側脳室脈絡叢は写真5に示すように、側脳室壁に凹凸不整にもり上ったようにして張り付いており非常に血管に富み、その構成はしっかりしている。写真6は Willis ring で後交通、前交通共に完成されており、特に前交通では完全な共同幹を形成しており、島形成もみられず、左右を結ぶ網目状血管の名残りも認められない。

生後0日目、妊娠19日目の新生仔では脈絡叢の血管構築上、成熟ラットと大きな異いはなかった。前脈絡叢動脈は内頸動脈端よりやや前方から側脳室方向に伸びて、ほぼストレートに脈絡叢に達している(写真6)。

Willis ring の形成は共同幹を形成し、島形成は左右どちらかに一カ所のみ認められた。また左右を結ぶ細血管はほとんど認められなかった。

後交通枝も成熟ラットと同様であった。

この形態はほぼ血管構築上完成されたものと思われる。

妊娠17日目の新生仔の脈絡叢の血管は生後0日目のものと比較すると、脳室内に向けての凹凸不整が少なく、弱い感じはするものの、構築上の相異はあまり認められなかった。

前脈絡叢動脈の形態は完成されたものに近いが、その走行には0日目よりやや蛇行しているものがあった。

Willis ring の形態では、まだ共同幹が未完成であり、左右に島形成が認められた。左右の前大脳動脈を結ぶ細血管及び未完成の共同幹を結ぶ細血管も認められた(写真7)。

考 察

動物実験で頭蓋内出血を起こすのはなかなか困難で、特に新生仔の脳室内出血を起こしたとの報告は犬や家兎を用いて成功したとの報告がある。今回我々の実験ではラットの妊娠17日目の未熟仔に、低酸素負荷を加えて、明らかな脳室内出血を認めた。しかし生後0日目の満期産仔、満期 IUGR 仔、妊娠19日目の新生仔には認められなかった。このことから、妊娠17日目という未熟性が最も大きな原因と考えられるが、低酸素症による脳室内出血の原因は単一なものではなく、脳循環障害の結果としてのうっ血、小静脈の内皮細胞の損傷、炭酸過剰、高浸透圧、血液凝固系の異常、外傷、Germinal matrix の成熟との関係、脈絡叢血管壁の特異性など種々の原因が複雑に関係しているものと思われる。

しかしながらいずれにしても未熟な血管には出血し易いと考えうる。この未熟な血管とはどのようなものであるか検索するため、今回ラテックス注入によって、微細血管構築面から検討を行った。

脈絡叢は血管に富み、脳室内に向けて脈絡上皮と共に膨隆しており、複雑に血管が走行するため、その表面は凹凸が激しい。妊娠17日目の未熟仔では、これが少ない所見があり、前脈絡叢動脈の走行にも異いが認められた。Maffat は Willis ring の形態ではラット胎生期のかなり早い時期、妊娠10日目頃までに前後の交通枝が出来、ring そのものは輪状になるとしているが、a. carotis

interna 優位の形態であり、後交通枝の方が早く完成され、前交通枝はあとになるとしている。また前脈絡叢動脈も CRL 4~6mm のときに分枝するとしている。しかし Willis ring は前交通枝ができて、一応の輪状となるが、それから徐々に整理され、未熟な血管は段々消失して行き、完全な成熟形態をとるものと考えられる。妊娠17日目の新生仔の前交通枝は、まだ共同幹を形成せず、島形成も残っており、横走する細動脈もみられ、まだ血管構築上完成されていないようである。この時期の血管構築上の未熟性は低酸素環境による急激な脳循環の変化に対応し得ないで、前、後脈絡叢動脈を介して脈絡叢にうっ血や出血をきたす一つの原因とも考えられる。

今回の実験では妊娠19日目になれば、ほぼ満期産仔と同様の血管構築が認められたことより、頭蓋内出血の予防には現在のところ、なるべく在胎週数を延長させ、満期産に近づけることが最も重要と考えられた。

要 約

ラット新生仔に低酸素負荷をかけ、脳血管の墨汁注入透明標本を作り、これの脳全体像及び脳実

質を崩し、側脳室内、脈絡叢の血管について観察した。さらに別の新生仔の心臓よりラテックスを注入し、微細解剖を行い、血管構築上の未熟性について検討した。

1. ラット満期産仔、妊娠19日目新生仔、満期 IUGR 仔に低酸素負荷を加えても脳室内出血は認められなかった。しかし妊娠19日目新生仔には一部脳実質内出血が認められた。また IUGR 仔には脈絡叢の血管にうっ血による腫大が認められた。
2. 妊娠17日目の新生仔では低酸素負荷により、脳室内出血が認められた。
3. ラテックス注入による血管構築の観察では、脈絡叢の毛細血管は成熟仔と未熟仔では血管構築上大きな変化はなかったが、脳室内への凹凸不整が未熟仔の方が少なかった。また前脈絡叢動脈では未熟仔の方がやゝ蛇行していた。Willis ring の前交通枝は未熟仔では未熟型であった。即ち、共同幹の未完成、島形成、左右を結ぶ横走血管の存在が認められた。
4. 以上のようなことから、脳室内出血の原因は単一なものではないが、脳血管構築上の未熟が、急激な脳循環の変化に対応できないで、出血の原因となる可能性が示唆された。

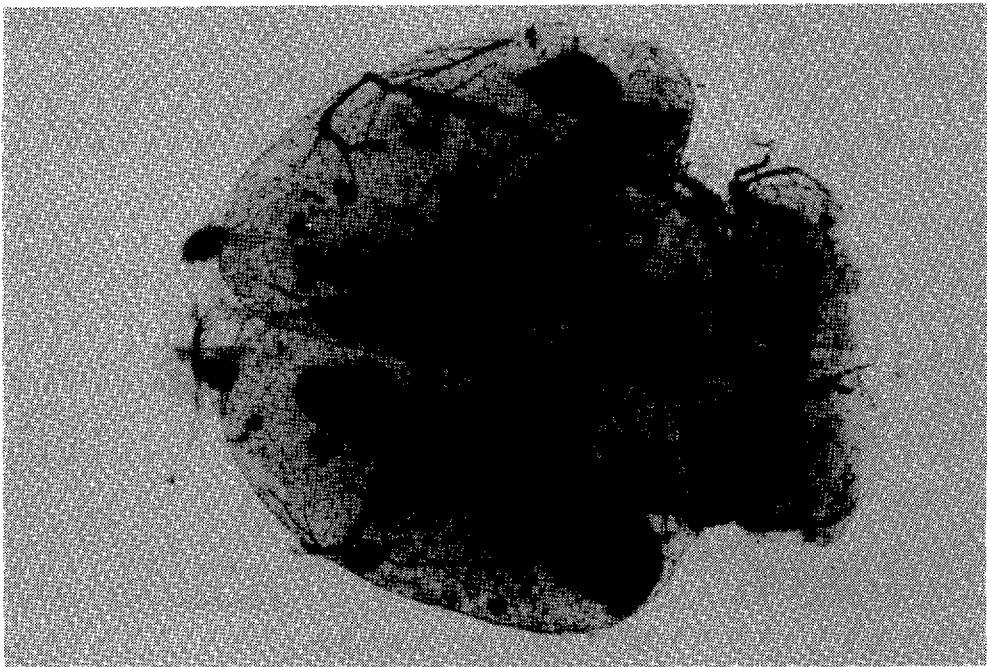


写真1. 妊娠17日目、低酸素負荷による変化

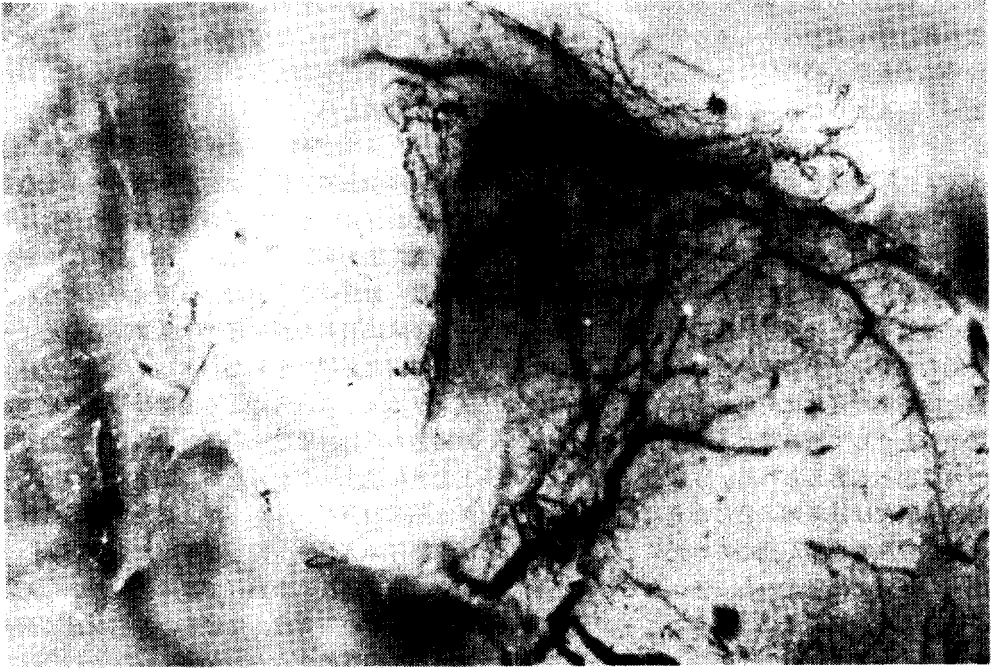


写真2. 生後0日目, 低酸素負荷のないときの脈絡叢の血管

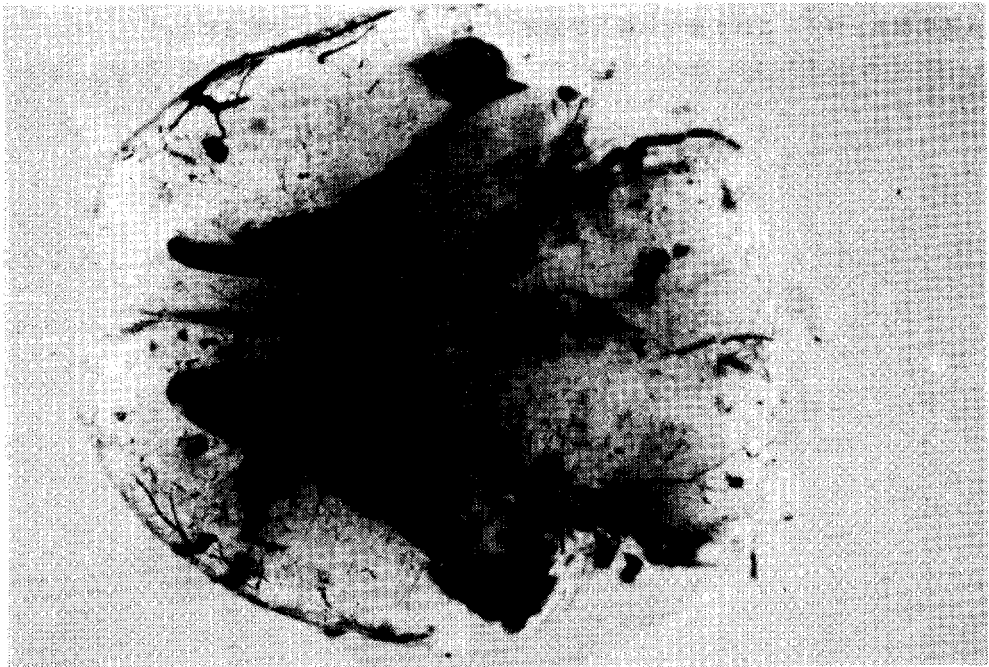


写真3. 妊娠17日目, 脳室内出血



写真4. 脳室内の出血巣



写真5. 生後3週目のラット脈絡叢



写真 6. 生後 3 週目のラット Willis ring

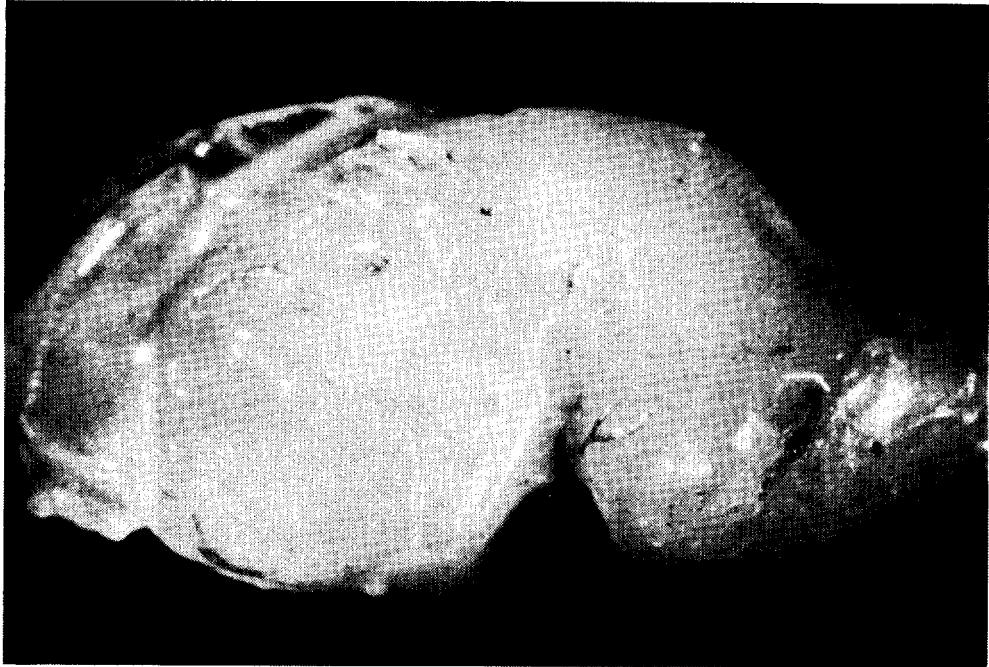


写真7. 妊娠19日目新生仔の脈絡叢と前脈絡叢動脈の走行

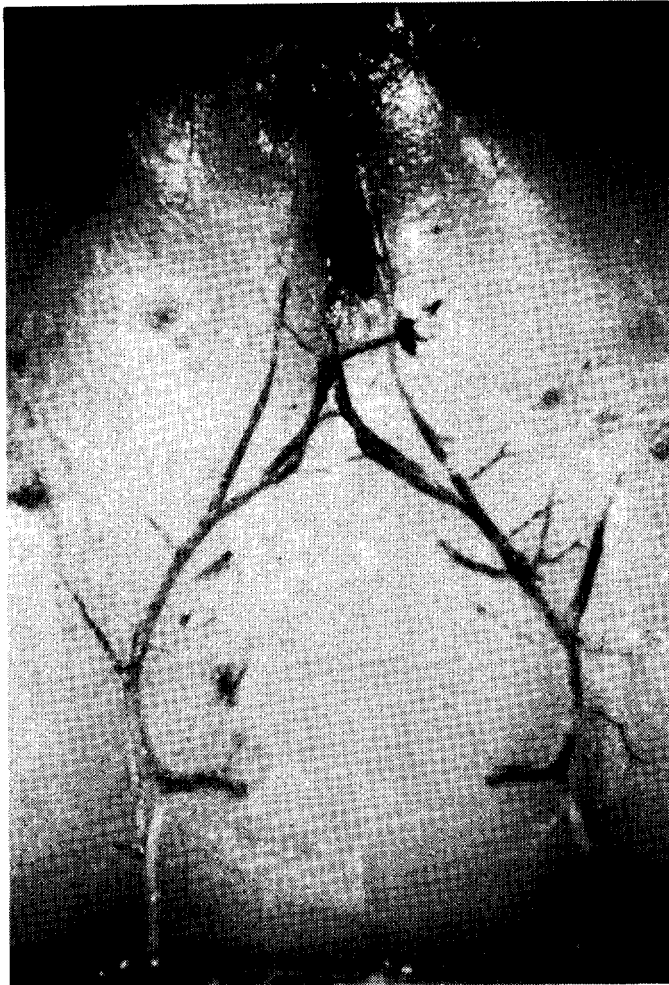
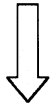
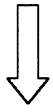


写真8. 妊娠17日目, 未熟型のWillis ringの前交通枝



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



研究目的

新生児の頭蓋内出血は分娩時の低酸素症が最も重要な因子であり、これに児の未熟性が加わったときにその発生頻度は高くなることは良く知られている。そこで昨年度はラットを用いて正常満期産仔と、胎内環境の異った満期 IUGR 仔を作成し、これに低酸素負荷をかけたときの脳血管パターンについて、墨汁注入透明標本で観察した。その結果、正常新生仔で低酸素負荷を加えないときの脳血管パターンを比較してみると、低酸素負荷によって、正常新生仔も IUGR 仔も網目状の毛細血管像の消失、静脈系の拡張、脈絡叢毛細血管のうっ血による腫大などがみられたが、明白な出血巣は認められなかった。しかしながら IUGR 仔ではその変化が強い所見が得られた。そこで今年度は脳血管の未熟性とはいかなるものか検討するために、生後0日目の満期産仔、満期 IUGR 仔、妊娠19日目、妊娠17日目の未熟仔を用いて、低酸素負荷を加えたときの血管パターン及び脳室内出血の有無を観察し、さらに血管構築面から未熟血管について検索を行うこととした。