

低酸素負荷によるラット胎仔上衣下層の 変化及び脳グリコーゲン代謝について

日本医科大学産婦人科

越 野 立 夫, 小 川 隆 吉
角 田 隆, 山 口 暁

はじめに

前年度までにラットを用いて、その成熟仔、IU GR仔、17日目、19日目の未熟仔について、低酸素負荷を加えたときの脳血管パターンについて観察を行った。その結果妊娠17日目の未熟仔に低酸素負荷を加えたときにはかなりの脳血管パターンに変化がみられ、一部脳室内出血も認められた。この原因として脳血管構築の未熟性が考えられた。そこで本年度は未熟脳の本態を知るために、未熟児脳の出血部位として重要な上衣下層について胎齢に伴う変化、ならびにこれらに低酸素負荷を加えたときの変化を電顕的に観察し、さらに胎仔脳内のグリコーゲン代謝について胎齢ごとに検討を加えた。

1) ラット胎仔上衣下層の変化

Wistar 系妊娠ラットを用いて胎仔に低酸素負荷を加えてのち、脳上衣下層の変化を電顕的に観察した。

実験方法

妊娠17日目、21日目のラットをエーテル麻酔下に開腹し、子宮に流入する血流を全てコッヘルにて20分間遮断し、胎仔に対してHypoxiaを負荷した後、胎仔を帝切にて娩出しその脳組織をgluter-osmiumにて二重固定を行い型のごとく処理し、その脳上衣下層(SEL)を電顕にて観察することにより行った。また、今回の実験方法でどの程度の負荷が胎仔の脳組織に加えられたか確認するために、21日目の妊娠ラット7匹に前述の負荷を行い、負荷時間(0分、10分、20分)ごとの胎仔脳組織中の乳酸を協和メディックス社の「デターミナLA」のキットを用いて測定し、100mg脳湿重量あたりの乳酸値を算出した。

実験成績

1. SELの超微形態の観察

17日目 control のSELでは核は細胞質に比して、比較的大きく、細胞質内には polysome が多く認められた。golgiやmitochondriaは極少量のみ観察された。細胞間接合では、完成した desmosome はほとんど認められず、また細胞間隙に collagen fiber は観察されなかった。全体的に平板な印象を受ける像を示していた(写真1)。

21日目の control のSELでは、17日目のものと基本的構造に差はみられないが一部に micro filament の出現を認め細胞間接合にも desmosome 様構造を認めた。mitochondriaなどの細胞内小器官も発達傾向を示している。細胞間隙には、繊維成分の出現も認められた。

17日目の hypoxia 20分負荷後のSELでは、細胞間接合の離開、細胞間浮腫とともに、細胞自体の断裂、破壊を思わせる所見を認めた(写真2)。

21日目の hypoxia 20分負荷後のSELでは、細胞間浮腫の所見が主体であり細胞自体の破壊像は少ない傾向がみられた。この変化は、毛細血管の周囲に著しい傾向が認められた。

2. 胎仔脳組織中の乳酸値

脳組織中の乳酸は、負荷時間0分では 74.0 ± 17.0 mg (mean \pm SD, $n=7$) であり、10分、20分での測定値は、 138.8 ± 21.7 mg ($n=7$)、 166.42 ± 19.0 mg ($n=7$) であった。

負荷後の10分、20分での乳酸値は、負荷前の値に対して有意な増加を示した ($p < 0.05$)。

また、10分、20分の間に有意な増加は認められなかったが、負荷時間の延長にともない増加傾向がみられた。

2) ラット胎仔脳のグリコーゲン代謝

glucose は肝臓において glycogen として蓄えられ、血糖が低下した時 glucose として遊離し、エネルギーとして利用される。脳でも肝臓と同様に glycogen の蓄積がみられ、glycogen synthetase, phosphorylase により調節される。しかし、その蓄積量は肝臓に比べ少ないといわれている。

胎児、新生児の脳においても、glycogen 含量は少なく、その蓄積、作用について不明な点が多いといわれている。

実験方法

ラット胎仔脳を用い、胎齢による glycogen 代謝の変化を脳内 glycogen 含量、glycogen synthetase, glycogen phosphorylase より検討した。

glycogen synthetase は、UDP (^{14}C) を使用し、Villar-Palasi らの方法で測定した。

glycogen phosphorylase は、遊離した Pi を Fiske and SubbaRow 法により 660 nm で比色、測定した。

glycogen は Hassid らの方法を若干改変しておこなった。

実験成績

表1の如く胎齢が進むにしたがい、胎仔脳/体重比が小さくなっていき、17日目、19日目、21日目の順で脳重量の占める割合が小さくなっていくことがわかる。

脳に含まれる単位湿重量あたりの glycogen 量を胎齢別に検討すると、17日目、19日目、21日目と胎齢が進むに従い減少する傾向がみられた。特に前年度の実験で17日目の未熟仔に低酸素負荷が加わると高率で出血が認められた。今回はこの17日目の未熟仔に glycogen の高値が示された(表2)。

次に脳の glycogen 量を調節する glycogen phosphorylase と glycogen synthetase 両酵素の活性を検討した。

表3、4の如く、glycogen phosphorylase 活性は、胎齢が進むにしたがって、a型、a+b型両者とも明らかな増加傾向がみられた。また、活性型である a 型の占める割合が各胎齢において80%以上になった。

glycogen synthetase はバラつきはあるが、大きな変化がみられなかった。また活性型である a 型の比率は約12%と脳内 glycogen 合成能が低いことを示している。

図1に示すように、脳内 glycogen phosphorylase a 型/synthetase a 型の比は胎齢が進むに従って上昇し、脳内 glycogen の分解が出生に向けて増加していることが示唆された。

まとめ

1. 脳組織中の乳酸値より今回の実験方法で胎仔に対してほぼ一定の低酸素負荷が加えられたと考えられた。
 2. 従来から論じられているように SEL は超微形態の上からも、細胞の支持構造が弱く、種々の負荷に対して脆弱な構造にあると考えられた。
 3. 子宮血流の停止により子宮内胎仔の SEL に細胞間浮腫が形成された。この所見は毛細血管周囲に著しい傾向が認められ、毛細血管透過性の亢進の関与が考えられた。
 4. 低酸素環境によって SEL に形成される細胞間浮腫は脳上衣下出血 (SEH) の準備状態と考えられた。
 5. 17日目では、SEL で細胞間浮腫のほか細胞自体の断裂破壊像が認められた。この原因としては、心血管系などの成熟も関係すると考えられるが、細胞骨格や細胞間接合などの細胞 level での成熟も SEH 発症に影響を及ぼすと考えられた。
 6. glycogen 代謝からみると出生に向い脳内 glycogen が減少する。このことは phosphorylase a 型活性が有意に増加することによるものと思われる。
 7. 6で述べたことは、胎仔肺の成熟過程における glycogen と同様の変化であり、胎仔肺においては、胎齢による glycogen の減少は glycogen を材料として surfactant になるためだといわれている。このことは未熟脳の特徴の一つかもしれない。
- 今後、胎齢による胎仔脳の glycogen の減少を代謝経路の検索により検討する予定である。

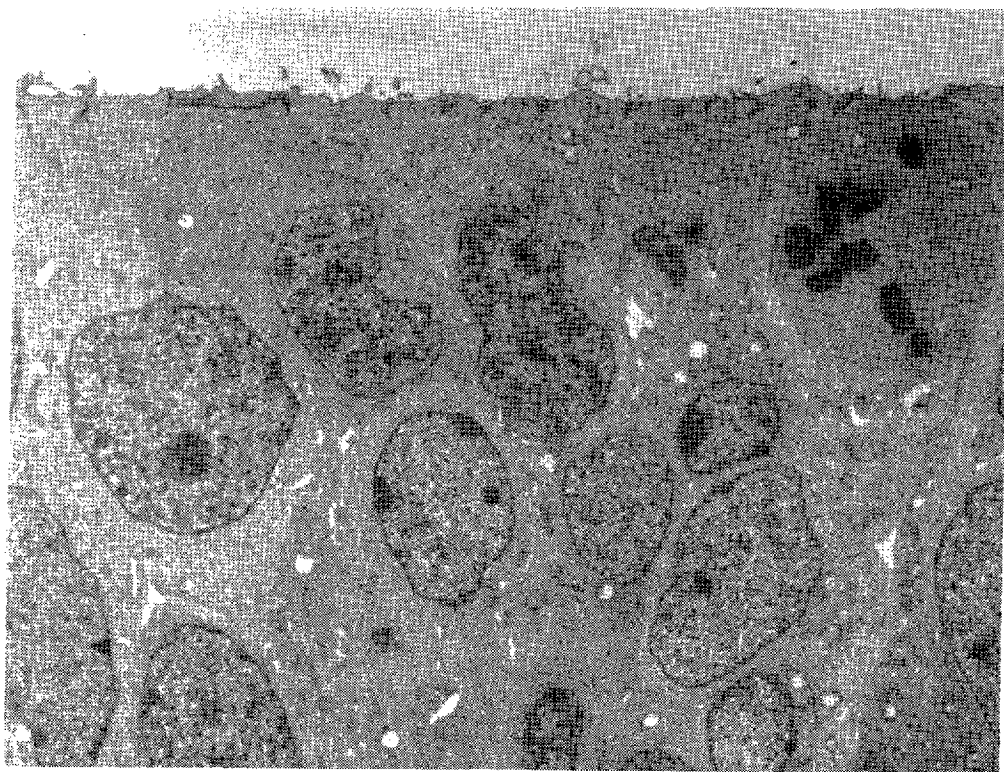


写真1. 妊娠17日目ラット胎仔の上衣下層

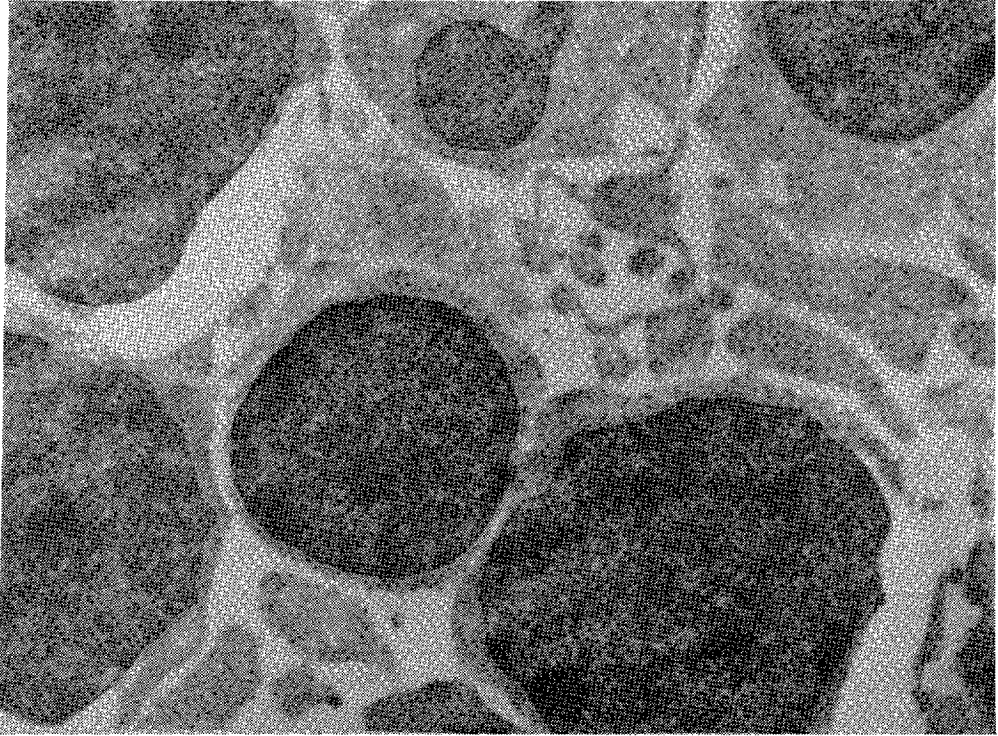


写真2. 妊娠17日目ラット胎仔の低酸素負荷後の
上衣下層

表 1

ラット臓器の重量と脳重量/体重比

	体重 (g)	脳重量 (g)	脳/体重 × 100
無処置群 (17日)	1.046 ± 0.022 (n=5)	0.087 ± 0.135 (n=5)	8.21 ± 1.16 (n=5)
無処置群 (19日)	2.897 ± 0.265 (n=18)	0.136 ± 0.007 (n=9)	4.97 ± 0.31 (n=9)
無処置群 (21日)	4.034 ± 0.335 (n=103)	0.139 ± 0.016 (n=43)	3.40 ± 0.66 (n=43)

表 2

脳に含まれる glycogen 量

	単位湿重量あたりの glycogen量 (μg/g.w.w)	脳のglycogen量 (μg)
無処置群 (17日)	74.39 ± 10.39 (n=4)	6.37 ± 1.25 (n=4)
無処置群 (19日)	83.55 (n=2)	9.01 (n=2)
無処置群 (21日)	57.71 ± 27.37 (n=13)	8.32 ± 4.25 (n=13)

表 3

胎令における glycogen phosphorylase の変化

胎令	17日目 (A)	19日目 (B)	21日目 (C)	P value	
				(A)vs(B)	(B)vs(C)
G. P. a型 units/10m/mg protein	3.39 ± 0.78 (n=14)	10.17 ± 1.38 (n=17)	19.03 ± 0.65 (n=12)	p < 0.001	p < 0.001
G. P. a + b型 units/10m/mg protein	3.47 ± 0.73 (n=14)	11.05 ± 2.22 (n=17)	23.71 ± 1.46 (n=12)	p < 0.001	p < 0.001

表4

胎令における glycogen synthetase の変化

胎令	17日目 (n=22)	19日目 (n=35)	19日目 (n=31)	P value	
				(A)vs(B)	(B)vs(C)
G. S. a型 units/mg protein	211.95±104.45	237.32±138.70	222.14±72.79	N. S.	N. S.
G. S. a+b型 units/mg protein	1631.84 ± 212.94	1904.43 ± 663.85	1742.60 ± 601.52	N. S.	N. S.

N.S.: not significant

G. P. a型/G. S. a型 ($\times 10^{-2}$) の変化

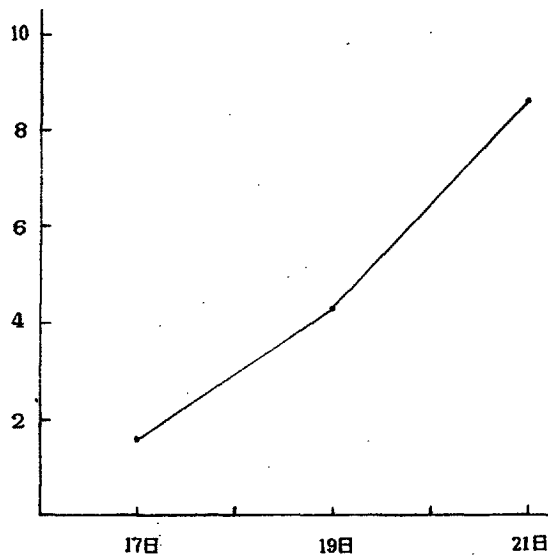
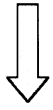
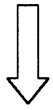


図1.



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



はじめに

前年度までにラットを用いて、その成熟仔、IUGR仔、17日目、19日目の未熟仔について、低酸素負荷を加えたときの脳血管パターンについて観察を行った。その結果妊娠17日目の未熟仔に低酸素負荷を加えたときにはかなりの脳血管パターンに変化がみられ、一部脳室内出血も認められた。この原因として脳血管構築の未熟性が考えられた。そこで本年度は未熟脳の本態を知るために、未熟児脳の出血部位として重要な上衣下層について胎齢に伴う変化、ならびにこれらに低酸素負荷を加えたときの変化を電顕的に観察し、さらに胎仔脳内のグリコーゲン代謝について胎齢ごとに検討を加えた。

1)ラット胎仔上衣下層の変化

Wistar系妊娠ラットを用いて胎仔に低酸素負荷を加えてのち、脳上衣下層の変化を電顕的に観察した。