The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Development of haemoglobin subtypes and extramedullary haematopoiesis in young rats : Effects of hypercapnic and hypoxic environment
Author(s)	河野, 朗久
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42829
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【54】

氏　　名	河　野　朗　久（こう の あき ひさ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　15686　号
学位授与年月日	平成12年8月7日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学　位　論　文　名	Development of haemoglobin subtypes and extramedullary haematopoiesis in young rats：Effects of hypercapnic and hypoxic environment （若年ラットにおけるヘモグロビンサブタイプの発達と肝臓内髄外造血について：特に高炭酸ガス・低酸素環境での影響）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　的場　梁次 （副査） 教　授　岡田伸太郎　　教　授　福田　　淳

論　文　内　容　の　要　旨

[目的]

我が国において乳幼児突然死症候群（SIDS）は新生児期を除く乳児期の死因のトップを占めているが、その実態・原因ともに明らかでない部分が多い。筆者等はこれまで乳幼児の突然死（SID）症例には法医病理学的に様々な共通点のある事を見出してきたが、特に胎児性ヘモグロビン（Hb-F）から成人型ヘモグロビン（Hb-A）への転換遅延と肝臓の病理学的変化は剖検所見としての頻度も高く乳幼児の突然死を説き明かす鍵になるものと考えられた。そこで、血中胎児性ヘモグロビン濃度と肝臓の病理学的所見との関係について Wistar 系ラットを用いて動物モデルによる証明を試みた。また、これを行うに当たって Wistar 系ラットの胎児期・新生児期・乳児期におけるヘモグロビンサブタイプおよび肝臓内髄外造血の発達性変化を明らかにする必要があったので、併せてその解析を行った。

[方法ならびに成績]

1）Wistar 系ラットヘモグロビンの発達性変化

妊娠ラットを用いて胎生12日齢、胎生16日齢、胎生20日齢、生後1日齢、同6日齢、同7日齢、同8日齢、同12日齢、同14日齢、同21日齢、同28日齢、同40日齢仔ラットのヘモグロビンを高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法を用いて分析し、この時期のラットヘモグロビンには8種類のサブタイプがある事を見出した。これらは発達と共に構成比率が変化し、中でも（a）第7、（b）第8サブタイプの比率が最も安定して加齢に伴う定量的変化を示した。（b/a+b）の発達に伴う変遷はヒトヘモグロビン Hb-F（gamma/beta+gamma）の発達に伴う変遷と類似した動きを示しており、ラットの胎児型ヘモグロビンに相当するものと考えられた。これらのサブタイプについて Time of flight（TOF）法による分子量の定量分析を行った結果、各々（a）bata-1（MW.15821.7）および（b）bata-2（MW. 15882. 0）globin である事が確認された。

2）Wistar 系ラット肝臓内髄外造血の発達性変化

ヘモグロビン分析に用いたラットの肝臓をホルマリン固定・パラフィン包埋の後、HE 染色により100倍にて検鏡し、9分割格子枠を用いて各々の枠内に存在する髄外造血細胞を計数した。なお、胎生12日齢についてのみは試料の大きさの関係から400倍にて検鏡した。その結果、Wistar 系ラットの肝臓内髄外造血細胞は出生時に向けて発達と共に増加し、出生後急速にその数を減少させ、正常では生後28日齢ころにほぼ消失する事が判明した。

3）低O_2高N_2環境、低O_2高 CO_2環境下における影響

新生児ラットを3つの実験群（①コントロール群、②低O_2高N_2環境群、③低O_2高CO_2環境群）に分けて生後2、3、9、10、16、23、24日にガスチャンバーを用いて各々①実験室内空気（O_2；20.9%）、②低O_2高N_2環境（O_2；13.9-15.1%，N_2；84.9-86.1%）、③低O_2高CO_2環境（O_2；13.9-15.1%，CO_2；11.5-12.7%，N_2；72.2-74.6%）に3時間ずつ曝露した。これらを生後7、14、21、28目に100%CO_2にて処置した後、直ちに血液・臓器試料を採取し、血中胎児型ヘモグロビン濃度および肝臓内髄外造血の程度を検索した。その結果、①コントロール群ではいずれも前述の標準値とほぼ同じ結果を示したのに対し、②低O_2高N_2環境群および③低O_2高CO_2ガス環境群ではいずれも胎児型ヘモグロビンから成熟型への転換遅延および肝臓内髄外造血の消失遅延の傾向を示し、特に③低O_2高CO_2環境群では統計学的に有意の差異を認めた（$t<0.05$）。また曝露実験中、②低O_2高N_2環境群のラットが洗面行動、交尾行動等の活発な交感神経優位の活動を示していたのに対し、③低O_2高CO_2環境群では曝露後約10分で昏睡状態となり以後曝露終了時まで深くてゆっくりとした呼吸を示していた。

[総括]

本研究では、まずWistar系ラットの周産期における胎児型ヘモグロビンの存在と同時期における肝臓内髄外造血の変遷を明らかにし、次いで単純な低酸素環境よりも高炭酸ガス環境の重複が胎児型ヘモグロビンから成熟型ヘモグロビンへの転換遅延および肝臓内髄外造血の消失遅延を生ずる事を明らかにした。従来、胎芽型および成熟型ヘモグロビンの2種類しか存在しないとされていたラットヘモグロビンにヒトヘモグロビンHb-Fと同様の胎児型ヘモグロビンの存在が明らかになった事は、今後、周産期の生理学的研究に有用であると考えられる。本研究ではこの結果を応用して乳幼児突然死症例において従来軽視されてきたHb-FからHb-Aへの転換遅延や肝臓内髄外造血巣等のminor medical changeの発症機序が実験的に証明され、これらの所見が死因と密接な関係にある事が示唆された。乳児の発育環境において低O_2高CO_2環境はうつ伏せ寝時の寝具環境等によって容易に生じるとされる一方、SIDSは添い寝の親も気づかぬ静かな死と言われており、窒息に代表される単純な低酸素障害とは異なる形態の外因死である可能性も示唆された。今後の課題として他のminor medical changeの検索と他仮説の検証が必要である。

論文審査の結果の要旨

乳幼児突然死症候群（以下SIDS）は原因不明の乳幼児に突然死を引き起こす疾患である。小児科・病理・法医の各領域において実態解明と正確な診断・有効な予防法の確立が望まれているが、乳幼児の突然死には窒息・感染症・小児虐待等SIDSから鑑別すべき突然死の原因も多く存在し、明確な区別は極めて困難である。一方、これらの突然死症例には多くの共通点が存在しており、その病態生理学的解明はSIDSの本態を説き明かす鍵になると考えられる。

本研究ではこれら共通点の中から肝臓の病理所見（特に脂肪変性と髄外造血）と血液生化学的異常（胎児性ヘモグロビン（Hb-F）から成人型ヘモグロビン（Hb-A）への転換遅延）に着目してこれらの所見が低酸素高炭酸ガス環境下に形成される事が動物モデル（Wistar系ラット）によって明らかとなった。乳幼児に対する低酸素高炭酸ガス環境は睡眠時体位や寝具環境、乳幼児の体調不良等が重複すると比較的容易に形成されると言われる。さらに本実験系では基礎的研究としてWistar系ラットの胎児期から成熟期に至るヘモグロビンの構造変化について、ラット・グロビン鎖の内beta-1鎖およびbeta-2鎖の比率変化がヒト・グロビン鎖のbeta鎖とgamma鎖の比率変化と類似する事が確認されたほか、肝臓内髄外造血所見の発達的変遷も明らかとなった。

以上の結果は乳幼児突然死の本態の一部を明らかにしたと言う点で臨床的に価値があるだけでなく、基礎的にも周産期の実験系確立に対して価値が高く、学位の授与に値すると考えられる。