

Title	赤血球における酸素拡散障壁の解析方法 ; 赤血球内ヘモグロビン量及び膜コレステロールの影響
Author(s)	昆, 和典
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/32838">http://hdl.handle.net/11094/32838</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

[23]

氏名・(本籍)	昆 <sup>こん</sup> 和 <sup>かず</sup> 典 <sup>のり</sup>
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5053 号
学位授与の日付	昭和55年8月6日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	赤血球における酸素拡散障壁の解析方法; 赤血球内ヘモグロビン量及び膜コレステロールの影響
論文審査委員	(主査) 教授 中馬 一郎 (副査) 教授 山野 俊雄 教授 中山 昭雄

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

赤血球の酸素運搬機能は、赤血球内外の酸素分圧が平衡状態で酸素解離曲線 (O. D. C.) を測定する事により調べられている(測定時間 $\geq$ 20分)。だが、現実の微小循環での酸素の運搬機能を論ずるには、より短時間でO. D. C. を測定する必要があるので、応答のよい酸素電極を自作し、O. D. C. を1分以内で測定する事を可能にした。その結果、短時間で測定したO. D. C. では赤血球内外の酸素分圧が非平衡である現象が見出され、その現象は、赤血球に酸素の拡散障壁が存在する事に帰因すると考えられた。そこで、非平衡状態で測定された赤血球内のオキシヘモグロビン ( $\text{HbO}_2$ ) の脱酸素化速度と外液の酸素濃度変化をもとにして、赤血球における酸素の拡散障壁に関するパラメーターを設定できる。既に、迅速混合装置での測定により、赤血球内 $\text{HbO}_2$ と溶血液の $\text{HbO}_2$ の脱酸素化速度に酸素の拡散障壁のため著しい差がある事が認められているが、赤血球内のpHや有機リン酸化合物濃度に依存して脱酸素化速度が変動するので、酸素の拡散障壁の影響のみを分離できない。従って、この方法では酸素の拡散障壁の実体、就中、赤血球膜が拡散障壁であるかどうかは明確化されていない。そこで、本研究においてあらたに設定できたパラメーターにより、赤血球内ヘモグロビン量と膜コレステロール量の変動が酸素の拡散障壁に対してひきおこす影響を検討する。

#### 〔方法ならびに成績〕

方法：全血を緩衝液で100倍に希釈する。この赤血球浮遊液にパン酵母を加えると酸素が酵母によって消費されて、 $\text{HbO}_2$ の脱酸素化が起り、デオキシヘモグロビン (Hb) に変化する。 $\text{HbO}_2$ からHbへの光吸収変化と同時に液中の酸素濃度の減少を酸素電極(白金—銀電極で応答時定数を小さくする

ために自作)で測定する。

酸素の拡散障壁に関するパラメーターの設定：液中の酸素濃度の減少速度 ( $V_{obs}$ ) は、酵母による酸素の消費速度 ( $V_{consump}$ ) と赤血球からの酸素の放出速度 ( $V_{egress}$ ) との差であることから、

$$V_{obs} = V_{consump} - V_{egress} \text{ とおける。}$$

酵母による酸素の消費速度は、ミカエリス・メンテンの式で表わされる。光吸収変化で求められた  $HbO_2$  から酸素の解離速度を  $V_{diss}$  として、パラメーター、 $r$  を

$$r = V_{egress} / V_{diss} \text{ とする。}$$

即ち、 $r$  値は、ある時間において、血球内の  $HbO_2$  から解離した酸素と外液に放出された酸素との濃度比をあらわす。

成績：赤血球内の2, 3-ジホスホグリセレート濃度あるいはpHを変えて、赤血球内の  $HbO_2$  の脱酸素化速度を変動させても  $r$  値は変動しなかった事より、 $r$  値は脱酸素化速度に影響をうけないパラメーターである。

赤血球浮遊液で、酵母による酸素の消費速度を増加させていくと、 $r$  値は1から0.8まで変動した。一方、溶血液では、 $r$  値は常に1であった。 $V_{egress}$  は液中の酸素濃度の増加速度とも言えるので、溶血液の場合、当然、 $V_{egress}$  は  $V_{diss}$  と等しくなる ( $\therefore r=1$ )。赤血球浮遊液では、外液の酸素消費速度が増加すると酸素の赤血球内での拡散が律速過程に入り、そして酸素の拡散障壁が存在するために  $r < 1$  となると考えられる。

赤血球内のヘモグロビン量を人工的に減少させ、正常の約60%まで減少させると、 $r$  値の増加がみられ、さらに減少させると  $r$  値も増加していった。この事は、赤血球内容物の粘性が酸素の拡散速度に影響を与えていることを示している。

人工的に赤血球膜のコレステロール量を増加させ、正常の1.5倍程度になると  $r$  値の減少がみられ、それ以後コレステロール量の増加とともに  $r$  値は減少していった。膜コレステロール量が増加するとともに膜の脂質の流動性が低下することが既に見出されていることから、膜内での酸素の拡散速度に膜の流動性が影響を与えらる。

#### [総括]

赤血球外液のはやい酸素消費をパン酵母によって行なわせ、応答時定数の小さい自作の酸素電極で酸素濃度変化を測定することより、赤血球内外で酸素分圧が非平衡にある状態を検出することができた。そして、この非平衡状態での  $HbO_2$  から  $Hb$  への光吸収変化と赤血球外液の酸素濃度変化を同時に測定することによって赤血球における酸素の拡散障壁に関するパラメーターを設定できた。その結果、赤血球内容物の粘性とともに赤血球膜の物性が酸素の拡散速度に影響をあたえていることが明らかにされた。

## 論文の審査結果の要旨

赤血球内ヘモグロビンから解離した酸素が拡散する時、赤血球膜が障壁となるかどうか従来議論が分かれていた。本論文は、酸素解離曲線測定時に、速度論的手法をとり入れた解析技術を開発し、膜内酸素拡散が障壁たりうることを実験的に始めて検証した。したがって、本論文は、学位論文にふさわしい内容をもつものと判断される。