

Title	微小酸素電極法による肝酸素消費の肝小葉内 Heterogeneityの証明
Author(s)	松村, 高勝
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34814
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	まつ 松	むら 村	たか 高	かつ 勝
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6621	号	
学位授与の日付	昭和59年10月8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	微小酸素電極法による肝酸素消費の肝小葉内 Heterogeneity の証明			
論文審査委員	(主査)			
	教授	阿部	裕	
	(副査)			
	教授	垂井清一郎	教授	田川 邦夫

論文内容の要旨

(目 的)

アルコール性肝細胞障害が肝小葉内でも中心静脈域で強く認められるごとく、種々な肝細胞障害の発生、発現は肝小葉内にて必ずしも一様ではない。その一因として肝細胞の代謝機能が肝小葉内で異なることがあげられている。たとえば糖新生に関する酵素は門脈域に、解糖に関する酵素は中心静脈域に偏し、ミトコンドリアや好氣的エネルギー代謝に関する酵素は門脈域に多いことなどが組織化学的な検索から明らかにされて肝細胞機能の肝小葉内heterogeneityが推察されていた。しかし、方法論の制約もあって代謝機能を微細部位で検索した報告はない。そこで著者は肝細胞機能の発現に必須なエネルギー生成に直結した酸素消費を独自に作成した微小酸素電極を用いて灌流肝の門脈域と中心静脈域にて測定し、肝細胞機能の肝小葉内heterogeneityを直接的に証明せんとして以下の検討を行なった。

(方 法)

- 1) 肝灌流：150～250gのSD系雌性ラットを用い、門脈域と中心静脈域の色彩差を強めるためにフェノバルビタールを飲水(1mg/ml)に溶解して1週から2週間投与した。肝灌流には酸素化(O₂95%, CO₂5%)したKrebs-Henseleit液(pH7.4, 37°C)を門脈より送液し、下大静脈より回収する開放系灌流回路を用いた。
- 2) 微小酸素電極：径50μの白金をガラスに封入し、先端をアクリルエステルポリマー(Rhoplex)で被膜し作成した。先端径は50～60μであり、肝小葉の大きさ(径500～1,000μ)に比べてきわめて小さいものである。
- 3) 局所酸素消費の測定：微小酸素電極を肝表面の門脈域と中心静脈域に留置して局所の酸素濃度を測

定した。門脈域と中心静脈域は色彩差により識別した。局所酸素消費は次式より算出した。すなわち灌流を一時的に中断すると、局所の酸素濃度は局所の酸素消費のために低下する。この低下率 $d[O_2]/dt$ を局所に留置した微小酸素電極で求める。局所酸素消費 ($\mu\text{mol}/\text{g}/\text{h}$) = $d[O_2]/dt \times$ 局所水分含量 (ml/g)。灌流肝の局所水分含量は別群のラット灌流肝を使用して次式より計算した。局所水分含量 (ml/g) = (灌流液を含んだ肝重量 - 肝乾燥重量) / 肝湿重量。その値は飽食ラットの肝は $0.85 \pm 0.08 \text{ ml}/\text{g}$ (mean \pm S.D.) で絶食ラットの肝は $0.90 \pm 0.03 \text{ ml}/\text{g}$ であった。一方、肝灌流の送水液ならびに排出液の酸素濃度はクラーク型白金電極で測定し、その差と灌流量より灌流肝全体の酸素消費を求めた。

4) 灌流肝の解糖活性：解糖活性の指標として排液中のpyruvateとlactateの濃度を酵素法で測定した。(成績)

飽食ラット ($n=6$) の肝局所酸素消費は門脈域で $131 \pm 9 \mu\text{mol}/\text{g}/\text{h}$ 、中心静脈域で $56 \pm 14 \mu\text{mol}/\text{g}/\text{h}$ であり、肝全体の酸素消費は $111 \pm 11 \mu\text{mol}/\text{g}/\text{h}$ であった。一方、24時間絶食のラット ($n=6$) のそれは門脈域で $141 \pm 12 \mu\text{mol}/\text{g}/\text{h}$ 、中心静脈域で $89 \pm 11 \mu\text{mol}/\text{g}/\text{h}$ であり、肝全体の酸素消費は $123 \pm 16 \mu\text{mol}/\text{g}/\text{h}$ であった。飽食と絶食の両条件下で門脈域の酸素消費が中心静脈域より有意に ($P < 0.001$) 高かった。又、門脈域の酸素消費は飽食と絶食のラットの間には有意差は認められなかったが、中心静脈域の酸素消費は飽食ラットより絶食ラットの方が有意に ($P < 0.001$) 高かった。解糖活性の指標であるlactate+pyruvateの産生は飽食ラットの肝が $65 \pm 15 \mu\text{mol}/\text{g}/\text{h}$ であるのに対して絶食ラットの肝は $5 \pm 1 \mu\text{mol}/\text{g}/\text{h}$ であった。

(総括)

- ① 組織接触型微小酸素電極を開発し、灌流肝の肝小葉内門脈域と中心静脈域の局所酸素消費の測定が可能となった。
- ② 飽食と絶食のいずれの肝においても肝局所酸素消費は門脈域が中心静脈域より大きく、局所酸素消費の肝小葉内heterogeneityを認めた。
- ③ 解糖活性の低下した絶食ラットでは解糖系によるATP生成が低下し、増えたADPがミトコンドリア呼吸を亢進させて局所酸素消費を増加させると考えられる。絶食に伴う局所酸素消費の増加が中心静脈域のみに認められたことは解糖活性が中心静脈域に高いことを示唆すると考えられた。

以上の微小酸素電極を用いた灌流肝局所酸素消費の解析から肝局所酸素消費の肝小葉内heterogeneityが証明され、解糖活性のheterogeneityが示唆された。接触型微小酸素電極による肝局所酸素消費測定方法の開発は、続いて肝小葉中心静脈性障害を引き起すエタノールが門脈域より中心静脈域の酸素消費を大きく増加させ、この両域の差が局所の解糖活性に帰因することを明らかにした (Matsumura, T.他Eur. J. Biochem. 1984 in press)。従って、微小部位の酸素消費測定法の開発とそれを応用した肝小葉内の酸素消費のheterogeneityの証明は、アルコール性肝障害をはじめとする種々な肝細胞障害の発生機序の解明に重要と考えられた。

論文の審査結果の要旨

肝細胞機能の肝小葉内heterogeneityは組織化学的検索から推測されていたが、実際の細胞機能が肝小葉内で異なるか否かは方法論的制約のため不明であった。

本論文は微小酸素電極を独自に開発し、酸素消費が肝小葉内門脈域と中心静脈域で異なること、及びその heterogeneity が酸素濃度に依存することを明らかにしたものである。