



Title	低温ラット肝の再灌流時ミトコンドリア電子伝達系の過酸化障害
Author(s)	西田, 俊朗
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35275">https://hdl.handle.net/11094/35275</a>
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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>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

氏名・(本籍)	にし 西	だ 田	とし 俊	ろう 朗
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7683	号	
学位授与の日付	昭和62年3月26日			
学位授与の要件	医学研究科外科系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	低温ラット肝の再灌流時ミトコンドリア電子伝達系の過酸化障害			
論文審査委員	(主査)			
	教授	川島	康生	
	(副査)			
	教授	田川	邦夫	教授 鎌田 武信

### 論文内容の要旨

肝臓を虚血にすると細胞内ATPレベルは低下し、これに伴いミトコンドリア内膜のプロトン障壁としての機能低下などを生じることが知られている。これらの虚血中の障害は血流再開後ATPレベルが回復すると修復されてゆくと考えられている。しかし、同時にこの虚血後血流再開に伴い、活性酸素による障害が生じるとされているが、この詳細な機構は全く不明である。本研究は、虚血後血流再開による肝の機能回復と再酸素加に伴う過酸化障害の機構の解明を目的として行った。

#### 〔方法ならびに成績〕

方法：体重約200gのSD系ラットを一夜絶食後にケタミン麻酔下に菅野の方法にて肝灌流をおこなった。30℃で30分間の灌流の後、虚血状態で0℃のコリンズ液中6時間、24時間、48時間放置後、30℃で60分間再灌流を行った。ラット肝よりミトコンドリアを単離し、亜ミトコンドリア粒子は、ミトコンドリアの超音波処理により調製した。酸素消費はクラーク型酸素電極を用い、アデニンヌクレオチドはHPLCにて、過酸化脂質量はマロンジアルデヒド法にて測定した。

成績：6時間、24時間、48時間の低温虚血により、もとのレベルの数%程度に低下していた細胞内ATPレベルは約10分間の再灌流で各々保存前値の約95%、90%、65%にまで回復した。この回復の度合は残存した総アデニンヌクレオチド量に依存していた。又、回復の早さは虚血時間が長くなる程低下した。再灌流後の糖新生能力、尿素合成能力、酸素消費量は全てATPレベルに比例して低下した。

虚血時間の延長によるATP合成能の低下や酸素消費の低下は、ミトコンドリア障害によるものと考えられるため、この様な肝臓よりミトコンドリアを単離し、その呼吸能を測定した。その結果、State

3呼吸と脱供役剤で開放した呼吸が虚血時間の延長と共に低下し、虚血中に起こることが報告されているState 4呼吸の上昇はみられなかった。この事より、虚血後血流再開した肝のミトコンドリアには無酸素条件下における障害（プロトン透過性亢進によるState 4呼吸の上昇）とは異なり電子伝達系の障害が生じていることが示された。この電子伝達系の障害は無酸素下では生じず、ミトコンドリアを酸素下に置くことによってのみ生じることより、酸素の毒性によるものと考えられた。

障害部位を同定するため、電子伝達系の部分反応を測定すると、酸素下でもコハク酸・ユビキノン酸化還元酵素およびチトクロームC酸化酵素の活性には変化なく、NADH・ユビキノン酸化還元酵素およびユビキノン・チトクロームC酸化還元酵素活性は酸素下でのみ低下し、障害部位はComplex IとⅢと結論された。この時、チトクローム・ユビキノンの量は変化無く、この活性の低下は、呼吸系成分の減少によるものでないことが示された。

さらに、脂質過酸化反応によりこの障害が惹起されることについて検討した。過酸化脂質量は、無酸素下に置いたミトコンドリアでは増加せず、酸素下のミトコンドリアでのみ増加した。又、亜ミトコンドリア粒子をt-butyl hydroperoxide (t-BtOOH)とincubationすると、時間とともに、t-BtOOHの濃度に比例し、過酸化脂質量は増加し、コハク酸酸化酵素・NADH酸化酵素の活性は低下した。同様に亜ミトコンドリア粒子をNADPH依存性過酸化反応系に入れると、コハク酸酸化酵素・NADH酸化酵素とも、時間依存性にその活性は低下した。この結果より脂質過酸化反応により電子伝達系が障害されることが確認された。

#### [総括]

1. 虚血肝の再灌流により回復するATPレベルは虚血時間の延長に伴い低下し、このATPの低下率に応じて酸素消費量・糖新生能・尿素合成能などの肝機能も低下する。
2. 虚血後再灌流した肝臓のミトコンドリアは、虚血時の障害とは異なり、活性酸素により脂質過酸化を受け、Complex IとⅢを中心に電子伝達系が障害される。

### 論文の審査結果の要旨

近年、臓器移植および虚血性臓器障害の増加に伴い、虚血障害の機構の解明とそれに基づく虚血臓器の保護方法の確立が望まれている。本研究は、ラット虚血肝モデルを用い、虚血後血流再開に伴う肝機能の回復は、細胞内ATPレベルに依存すること、およびこの血流再開時ATP合成の場であるミトコンドリア電子伝達系が過酸化反応により障害されることを明らかにした。

従って本論文は、虚血障害機構の解明を進め、虚血障害の保護に理論的根拠を与えるものであり高く評価される。