

Title	Hypoxiaによる脳障害における解糖系ならびに酸素代謝の動向
Author(s)	上田, 周一
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/36013">https://doi.org/10.18910/36013</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【2】

氏名・(本籍)	うえ	だ	ひろ	かず
	上	田	周	一
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8079	号	
学位授与の日付	昭和63年3月25日			
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	Hypoxiaによる脳障害における解糖系ならびに酸素代謝の動向			
論文審査委員	(主査) 教授	田川 邦夫		
	(副査) 教授	鎌田 武信	教授	和田 博

論文内容の要旨

〔目的〕

脳が酸素不足に陥ると、嫌氣的解糖の亢進あるいは血管拡張による酸素供給改善といった代償機転が働き、障害発生の予防をしていることが報告されている。しかしながら酸素代謝の直接的な評価法がないために代償の程度あるいはそれぞれの機転の間の相互関係に関してはいまだに不明である。本研究では、エネルギー代謝関連物質の微量定量法を確立するとともに、脳内ヘモグロビンの酸素化およびチトクロームオキシダーゼの酸化還元状態の変化を近赤外透過スペクトル測定によって追跡することから、Hypoxiaによる脳障害発生のメカニズムの解明を試みた。

〔方法〕

雄 ddY マウス (体重 20 g) を用い、

(1) Hypoxia 導入後の脳内各エネルギー代謝関連物質レベルの時間変動の追跡:

無麻酔下で、Hypoxia (4.4% O<sub>2</sub>, 95.6% N<sub>2</sub>) に導入し、一定時間の後、脳を液体窒素で凍結固定、凍結乾燥の後、過塩素酸抽出、KOH による中和を行い、定量に供した。定量は、クレアチンリン酸およびアデニンヌクレオチドは HPLC で、乳酸およびグルコースは固定化酵素カラムと過酸化水素検出器を組み合わせた方法によった。

(2) Hypoxia 時の嫌氣的解糖によるエネルギー産生量の評価:

① エネルギー消費速度の算出:

完全虚血 (断頭) 時の高エネルギーリン酸化合物の減少および乳酸蓄積の各初速度より以下の式に従い算出した。

$$\Delta \sim P = \Delta PCr + 2 \times \Delta ATP + \Delta ADP - \Delta lactate$$

## ②嫌氣的解糖によるエネルギー供給量の割合：

脳血液関門は乳酸を通さないため、Hypoxia中でも乳酸蓄積速度は嫌氣的ATP産生量にほぼ等しいと考えられるので、その値の①より求めた需要に対する比率を算出した。

同様の方法で高血糖およびペントバルビタール麻酔(30mg/kg)の効果についても検討した。

## (3)ヘモグロビンおよびチトクロームオキシダーゼの経時変化：

UNISOKU社製、生体分光光度計MS-401-01を用い、ペントバルビタール麻酔下でマウスを仰臥位に固定し、下顎より頭頂部方向に光を照射し、透過した近赤外領域(700-900nm)のスペクトル変化を、経時的に記録した。

### [成績および考察]

(1)無麻酔マウスは、約4分で死亡した。このとき脳内ATPレベルは、約3分間は正常レベルに保たれていたが、それ以後急激に低下、消失した。クレアチン磷酸も導入後に半分低下した後は、これも3分後に急激に低下消失するまで、一定レベルに保たれていた。一方、嫌氣的解糖の亢進により、グルコースは時間とともに低下し、乳酸が急激に蓄積した。以上より、急激なATPレベルの低下の出現が、Hypoxia障害の発生と密接に関連していることがわかった。そこで、脳内ATP産生におよぼす嫌氣的解糖系の役割につき検討した。

(2)無麻酔下における、嫌氣的解糖によるATP供給量は、需要(約 $22 \mu\text{mol}/\text{g} \cdot \text{min}$ )の20%に満たなかった。高血糖マウスにおいてもこの役割は最大約25%にしか上昇せず、生存時間の延長もほとんどみられなかった。一方、ペントバルビタール麻酔下では、ATP需要は $18 \mu\text{mol}/\text{g} \cdot \text{min}$ に低下した。このときのHypoxia(4.4%O<sub>2</sub>)での嫌氣的解糖によるATP産生は、需要の13%程度であったにもかかわらず、生存時間は平均12.7分に延長していた。また脳内ATPレベルも死亡約2分前まで一定レベルを保っていた。以上より、嫌氣的解糖の亢進のみでは、生存に必要なATPレベルの維持は不可能であると結論された。そこで、脳内酸素代謝動態につき検討した。

(3)麻酔下では、Hypoxia導入により、脳内(静脈)ヘモグロビンは、約2分で、完全に脱酸素化がおこり、その後は死亡時まで一定であった。脳内血管容積を反映すると考えられるヘモグロビン総量は、導入直後より増加していた。一方チトクロームオキシダーゼは、導入直後急激に還元にかたむいたあと、血管拡張による酸素供給の改善により、やや酸化にかたむき一定レベルを保ったが、死亡約2分前に完全還元に陥り、死に至った。すなわち、酸化的磷酸化能の維持が、低酸素条件においても脳内ATPレベルの維持と生存には不可欠であることが結論された。

### [総括]

致死的なHypoxiaにおける脳障害発生機序の解明のため、循環および代謝の両面より変動の追跡をおこなった。

(1)酸素欠乏状態においても脳内ATPは死亡直前まで正常レベルに保たれていたが、嫌氣的解糖の亢進はATP供給面からみると20%程度の貢献しかなく、チトクロームオキシダーゼの酸化還元状態からも、酸素代謝の継続が示された。

(2) Hypoxia障害の発生には、チトクロームオキシダーゼの完全還元すなわち組織酸素欠乏による ATP の消失が、ひきがねとなっていることが示された。

したがって、Hypoxia障害の予防には、酸素供給の維持による酸化的磷酸化能の維持が必須であることがわかった。

### 論文の審査結果の要旨

近年、虚血性脳疾患が増加傾向にあり、その病態生理の解明は重要な課題であるが、酸素代謝の評価法が確立していないためなお不明である。本研究では、酸素代謝の維持なしには、脳の高いエネルギー需要をまかなえないことを定量的に示した。さらに、近赤外光の透過スペクトル分析により、酸素供給低下によるミトコンドリアの酸化的磷酸化能の低下が不可逆的障害の原因になることを示した。以上、脳での低酸素障害発生に際して酸素代謝の役割について、明確に示したものとして評価される。

さらに、無侵襲的脳機能評価法としての、近赤外光透過スペクトル分析法の有用性を示したものとしても注目され、学位論文に値するものと思われる。