The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	肝小葉内局所酸素消費の制御におけるcalmodulin-calcium複合体の役割
Author(s)	吉原, 治正
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36494
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

【48】

氏名・(本籍)	吉原治正（よしはら はるまさ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8311 号
学位授与の日付	昭和63年7月7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	**肝小葉内局所酸素消費の制御における calmodulin-calcium 複合体の役割**
論文審査委員	(主査) 教授 鎌田 武信 (副査) 教授 垂井清一郎　教授 田川 邦夫

論文内容の要旨

〔目　的〕

肝では解剖学的構造や各種酵素活性が肝小葉内で異なり，種々の肝疾患でも肝小葉内での障害の部位が異なることが知られている。一方，肝組織への酸素供給は肝細胞エネルギー維持に必須であり，肝病変の発症や進展と密接に関与することが示されている。従って，肝小葉内各部位での酸素代謝の差を検討することは肝疾患の病態解明に有用と考えられる。灌流肝では肝小葉内門脈域（ＰＰ）酸素消費は中心静脈域（ＰＣ）酸素消費の２～３倍高く，肝局所酸素消費は局所酸素濃度に依存することが報告されている。しかし，その詳細な機序は明らかではない。更に，分離ミトコンドリア呼吸はCa^{2+}により促進され，灌流肝では細胞内Ca^{2+}を増す epinephrine が肝小葉内ＰＰよりＰＣの酸素消費を著しく増大することが報告されている。そこで，肝小葉内局所酸素消費の制御におけるCa^{2+}とCa^{2+}結合蛋白，calmodulin の役割を calmodulin 阻害剤，Ｗ－７を用いて検討した。

〔方　法〕

肝小葉内ＰＰとＰＣの色調差を増すために phenobarbital sodium（１mg／mℓ)含有飲料水を１～２週間投与したＳＤ系雌性ラットを用いた。24時間絶食ラット肝を95％O_2＋５％CO_2で飽和された Krebs－Henseleit 緩衝液（pH7.4，37℃）を用い，開放系回路で灌流した。注入液と排出液の酸素濃度は Clark 型白金電極で測定し，その較差から灌流肝全体の酸素消費を算出した。肝小葉内ＰＰとＰＣの局所酸素消費の測定は独自に作成した微小酸素電極（径50～60μm）を肝表面の局所に留置し，一時的灌流遮断により生ずる局所酸素濃度の低下率から算出した。更に，Schneider の方法に準じラット肝のミトコンドリア分画を分離し，Clark 型白金電極を用いてミトコンドリア呼吸を polarography 法にて測定した。

〔成　　績〕

1）W－7の灌流肝酸素消費に及ぼす影響

門脈→肝静脈への順行性の灌流においても，肝静脈→門脈への逆行性の灌流においてもcalmodulin阻害剤，W－7は灌流肝全体の酸素消費を濃度依存性に最大80％（W－7，100μM）まで抑制した。又，W－7による肝酸素消費の抑制は血管拡張剤であるsodium nitroprussideの存在下でも同様にして起こり，W－7の肝微小循環への影響，即ち肝局所への酸素供給の低下によるものではないと考えられた。

2）W－7の肝小葉内局所酸素消費に及ぼす影響

順行性の灌流では肝小葉内ＰＰ酸素消費はＰＣ酸素消費の2～3倍高かった。W－7（100μM）の注入により上流側ＰＰ酸素消費は129±9→45±11μmol／g／hと有意（P＜0.001）に抑制されたが，下流側ＰＣ酸素消費は47±3→36±4μmol／g／hと著しい抑制は認められなかった。一方，逆行性の灌流では上流側ＰＣ酸素消費は下流側ＰＰ酸素消費の2～3倍高く，灌流方向の逆転により酸素消費も逆転した。W－7（100μM）は上流側ＰＣ酸素消費を160±13→59±2μmol／g／hと有意（P＜0.001）に抑制し，下流側ＰＰ酸素消費には58±9→43±4μmol／g／hと著しい影響を及ぼさなかった。即ち，灌流方向にかかわらずW－7は酸素濃度の高い上流域酸素消費を抑制した。

3）肝小葉内局所酸素濃度と局所酸素消費の関係に及ぼすW－7の影響

注入灌流液酸素濃度を変えることにより肝局所酸素濃度を200→800μMまで変化させると，肝局所酸素消費も40→200μmol／g／hへと酸素濃度に依存して増大した。しかし，W－7（100μM）存在下では酸素濃度に依存した酸素消費の増大は極めて少なかった。即ち，W－7による肝酸素消費の抑制は肝小葉内同一部位でみたとき低酸素濃度より高酸素濃度において著しく大であった。

4）W－7の分離ミトコンドリア呼吸に及ぼす影響

succinateを基質とした場合においてもmalate＋pyruvateを基質とした場合でもW－7（100μM）は分離ミトコンドリアstate 3及びstate 4呼吸に影響を及ぼさなかった。

5）Epinephrine及びFructoseの肝酸素消費上昇効果に及ぼすW－7の影響

epinephrineは肝細胞内Ca^{2+}量を増大し肝酸素消費を促進すること，fructoseはＡＤＰ産生を増大し肝酸素消費を促進することが知られている。epinephrine（0.1μM）及びfructose（4mM）の注入により灌流肝酸素消費は増大した。しかし，W－7（100μM）存在下ではepinephrineによる肝酸素消費促進効果はほとんど消失し，fructoseによる促進効果は残存した。

〔総　　括〕

calmodulin阻害剤，W－7は直接的にミトコンドリアに影響することなく，灌流肝酸素消費を濃度依存性に抑制した。又，W－7による肝酸素消費抑制は順行性，逆行性のいずれの灌流においても酸素濃度の高い上流域で有意であったことから，肝小葉内各部位での酸素消費の制御にcalmodulin－Ca^{2+}が関係していると考えられた。又，肝細胞内Ca^{2+}の増加により肝酸素消費を促進するhormoneの作用発現はcalmodulinを介すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

肝小葉内には代謝機能に不均一性があることが明らかにされており，これが肝病変の発症と関係すると考えられている。本論文はこの代謝機能に密接に関連する酸素消費の肝小葉内での不均一性について，その機序に各種細胞内代謝の調節因子である Ca^{2+} 及び calmodulin が関与するかどうかを検討し，細胞内 Ca^{2+} 及び calmodulin は肝小葉内局所酸素消費を調節する1因子であることを明らかにした。肝小葉内の代謝機能，特に局所酸素消費の不均一性についての機序の把握は肝臓の生理のみならず各種肝疾患の病態解明に資するところ大であり，学位論文に値すると考えられる。