



Title	Role of leukocytes in reperfusion injury of skeletal muscle after partial ischemia
Author(s)	横田, 順一郎
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37499
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

【 14 】

氏名・(本籍)	よこ 横	た 田	じゅん いち 順 一	ろう 朗
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9 2 4 2	号	
学位授与の日付	平 成	2 年	5 月	14 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	Role of leukocytes in reperfusion injury of skeletal muscle after partial ischemia (骨格筋虚血再灌流障害における活性酸素と白血球の役割)			
論文審査委員	(主査)	教 授	杉本 侃	
	(副査)	教 授	川島 康生	教 授 吉矢 生人

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

虚血障害の病態生理で近年注目を集めている機序に、組織の損傷が虚血や低酸素そのものに由来するだけでなく、再灌流や再酸素化の際に一層憎悪する、いわゆる再灌流障害の存在がある。このメカニズムとして活性酸素が各種生体膜を傷害し、その機能を損なうことが示唆されている。とくに形質膜が細胞内環境の恒常性を維持する基本的な構造体であることから、この膜が活性酸素により攻撃を受けるかどうかを検討することは極めて重要である。同時に活性酸素の発生源として、白血球 (NADPH oxidase)、血管内皮細胞 (xanthine oxidase)、ミトコンドリア (呼吸鎖電子輸送体) のいずれが主体であるか不明であり、これを明らかにすることはこの病態生理を解明する点で意義がある。本研究は、骨格筋の虚血再灌流障害において活性酸素による形質膜損傷の存在とその活性酸素の発生源を解明することを目的とした。

〔方 法〕

動脈圧モニター下に Sprague-Dawley ラットで、ヘパリン (400 U/kg) 投与後腎動脈直下大動脈遮断による下肢の 90 分虚血を作成し、遮断解除後 60 分まで観察を行った。虚血前、虚血時および再灌流後の下肢骨格筋において、微小電極法による in vivo 静止膜電位 (Em) と Bergmeyer 変法による組織有機リン酸 (ATP, クレアチンリン酸; CP) 値および組織乳酸値を測定した。無処置の対照群 (n=8) に対し以下の三群を比較した。SOD+CAT 群 (n=7) : 再灌流直前に活性酸素消去剤 superoxide dismutase (SOD) と catalase をそれぞれ 6,000 U/kg 投与した群。SOD は血中半減期を延長させるためにポリエチレングリコール修飾体を使用した。DMM 群 (n=8) : 実験 1 週間前

にアルキル化剤 dimethylmyleram (6mg/kg) の経静脈的投与により、予め作成した白血球減少症ラットを使用した群。この処置例で平均白血球数が $1210/\text{mm}^3$ 、その好中球分画が 1.2% と他群に比し有意な白血球減少モデルを作成しえた。ALLO 群 (n=8): 実験 3 日前より xanthine oxidase 阻害剤 all opurinol (50 mg/kg/day) で処置した群。

〔成績〕

虚血時、対照群の Em は虚血前に比し有意な脱分極を示した (-90.3 ± 0.3 から -78.6 ± 0.5 mV, mean \pm S E, $p < 0.05$)。同時に CP 値は低下し (2.08 ± 0.6 から $1.16 \pm 1.5 \mu\text{mol/g}$)、乳酸値は上昇した (2.1 ± 0.2 から $15.5 \pm 1.7 \mu\text{mol/g}$) が、ATP 値は有意な変化を示さなかった (7.0 ± 0.4 から $7.0 \pm 0.2 \mu\text{mol/g}$)。他の三群も同様の変化を示し対照群に比し有意な差を認めなかった。再灌流後、対照群の ATP 値は虚血前値を維持し ($6.4 \pm 0.2 \mu\text{mol/g}$)、CP 値は虚血前値に回復 ($20.9 \pm 0.8 \mu\text{mol/g}$)、乳酸値も低下した ($3.9 \pm 0.7 \mu\text{mol/g}$)。他の三群の変化も同様であった。再灌流後の Em では対照群と ALLO 群が脱分極のまま留まったのに対し (各々 -75.4 ± 1.5 , -77.0 ± 0.7 mV), SOD+CAT 群と DMM 群では有意な再分極を認めた (各々 -86.5 ± 0.9 , -88.6 ± 0.7 mV)。

〔総括〕

静止膜電位の恒常性は Na-K ポンプ作用と Na および K に対する膜透過性の維持によって規定される。虚血・再灌流を通じ終始組織 ATP が維持されていたことから、骨格筋の脱分極は $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATPase}$ 活性の低下もしくは膜透過性の変化のためと考えられる。この原因として虚血時では組織アシドーシスの存在が既に指摘されているが、再灌流における再分極の抑制については組織乳酸値が有意な改善を示したことから他の因子の存在を考慮しなければならない。本実験で活性酸素消去剤 (SOD+CAT) の処置が対照群に比し再灌流後の膜電位を有意に再分極させたことから、活性酸素による形質膜機能障害の存在が示された。これは活性酸素が脂質過酸化による膜の傷害を介して $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATPase}$ 活性や膜透過性を変化させうる多くの証拠によって支持される。さらに白血球減少モデルが活性酸素消去剤と同様の効果を示し、活性酸素の発生に白血球の関与が強く示唆された。これに対し xanthine oxidase 阻害剤が無効であったが、この結果はラット骨格筋組織では xanthine oxidase 活性をほとんど認めないとする諸家の報告と一致する。一方、対照群で再灌流後の CP 値が正常化したことは好気性条件下でのミトコンドリア機能の無傷性を意味し、本実験モデルではミトコンドリアでの活性酸素発生は否定的と思われた。以上、虚血骨格筋の再灌流に際して、白血球 NADPH oxidase に由来する活性酸素が細胞外より骨格筋の形質膜を損傷せしめることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文の要旨は、骨格筋における虚血再灌流に際し、活性酸素による細胞膜機能障害の存在と活性酸素

の産生場所として白血球の関与を示したことである。

xanthine oxidase 活性のほとんどない骨格筋で、白血球由来の活性酸素の関与を示したことは、きわめて意義のある研究であり、今後、他のメディータとの関連を研究する糸口にもなる。さらに脳、心臓、肝臓、消化管、腎臓など他の臓器における再灌流障害の病態を研究するにあたり、本研究は多くの示唆を与えるものである。

また障害の指標として静止膜電位を採用したことは、この分野の研究では類がなく、膜の機能障害を知る上で重要なことである。加えて、組織代謝の評価を加えたことは、その障害機序を十分説明するにたるものである。

本論文を審査した結果、以上の観点から学位授与に値する研究であると思われた。