

Title	Potassium-39 nuclear magnetic resonance observation of intracellular potassium without chemical shift reagents during metabolic inhibition in the isolated perfused rat heart
Author(s)	九鬼, 覚
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38327">https://hdl.handle.net/11094/38327</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照ください</a> 。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	九 鬼 覚
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 1 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 5 月 12 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Potassium-39 nuclear magnetic resonance observation of intracellular potassium without chemical shift reagents during metabolic inhibition in the isolated perfused rat heart (化学シフト剤を使用しない <sup>39</sup> K NMR法によるラット摘出灌流心における代謝阻害時の細胞内カリウムの観察)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 田 暉 (副査) 教 授 多 田 道 彦 教 授 田 川 邦 夫

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

心筋が低酸素状態になると $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPase への ATP の供給が減少し心筋細胞内 $\text{K}^+$ の流出が生じる。この現象は、これまで間接的測定法により観察されている。近年、心筋細胞内 $\text{K}^+$ の直接的な測定法として<sup>39</sup>K nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy が用いられるようになったが、この際には dysprosium triethylenetetramine- $\text{N,N,N',N'',N''',N'''}\text{-hexaacetic acid}$ , Dy (TTHA) や dysprosium triphosphate, Dy (PPPi) 等の化学シフト剤が併用されている。しかし化学シフト剤の持つ安定性や free  $\text{Ca}^{2+}$  との chelation の問題により生体試料への使用に際しては不都合が生ずる。

本研究ではラット摘出灌流心を用いて細胞内 $\text{K}^+$ の spin-lattice ( $T_1$ ) 緩和特性を明らかにし、化学シフト剤を用いない<sup>39</sup>K NMR法を確立し、さらに代謝阻害時の心筋細胞内 $\text{K}^+$ の変動を連続的に測定し、これを冠流出液のイオン分析の結果と対比することにより本法の妥当性を検討することを目的とした。

### 〔方 法〕

体重50-80gの Sprague-Dawley ラットの摘出心を33℃で Langendorff 灌流とした。glucose の除去と2mM NaCN により40分間の代謝阻害とし、その後30分間の wash out を行った。

NMR 測定には NMR spectrometer (Bruker WM-360wb) を使用した。測定周波数は16.8MHz とし、90° pulse は37.5  $\mu\text{sec}$  であった。細胞内外の $\text{K}^+$ の同定には10mM の Dy (TTHA) を使用した。 $T_1$ 時間の測定には inversion recovery pulse sequence (180° -VD-90° -(acquire)) (以下IR法) を用いた。この時、パルス繰り返し時間 (D) は365msec とし、回復時間 (VD) は1から365msec まで変化させた。細胞内 $\text{K}^+$ の測定には modified IR法を用い、計測には60° パルスを使用した。この時 D は132msec とし、VD は47msec に設定し、5分間で1550回の積算を行った。細胞内 $\text{K}^+$ 量は control 値に対する%変化で示した。

冠灌流液のイオン分析は NMR 測定と同一実験系において冠流出液を1分毎に採取し、冠流入、流出液の $\text{K}^+$ 濃度をイオン電極法で測定し、 $\text{K}^+$ 流出量 ( $\mu\text{mol/g/min}$ ) を求めた。各実験終了時に心筋乾燥重量を測定し、細胞内

K<sup>+</sup>含量および細胞内 K<sup>+</sup>の流出量は乾燥重量で補正した。

#### 〔成績〕

- 1) 10mM Dy (TTHA) により細胞外 K<sup>+</sup> (以下 K<sup>o</sup>) は 5.5ppm のシフトを示し、細胞内 K<sup>+</sup> (以下 K<sup>i</sup>) はシフトを認めなかった。
- 2) K<sup>o</sup> の T<sub>1</sub>緩和時間は 68.2msec であり、K<sup>i</sup> のそれは 8.3msec であった。即ち、K<sup>o</sup> の信号強度は 47maec で最小となり、この時 K<sup>i</sup> のそれは 99.6% まで回復した。
- 3) 40分間の代謝阻害により NMR で観察される K<sup>i</sup> は 60.2±4.3% に減少し、その後 30分間で 94.2±3.9 に回復した。
- 4) 冠灌流液のイオン分析による K<sup>i</sup> の流出量は 40分間の代謝阻害により 139±12 (μmol/g dry wt) となり、コントロール値の 41.8% であった。
- 5) NMR で観察される K<sup>i</sup> の減少量とイオン分析による K<sup>i</sup> の流出量の間には代謝阻害時及び回復期を通じて、 $r^2=0.95$ ,  $p<0.001$  の正の相関がみられた。

#### 〔総括〕

- 1) ラット心筋細胞内 K<sup>+</sup> の spin-lattice relaxation time (T<sub>1</sub>時間) は 8.3msec であり細胞外 K<sup>+</sup> のそれに比し極めて短縮していた。
- 2) 上記の緩和時間差を利用したパルス系列 (modified IR法) を用いることにより化学シフト剤を使用せず <sup>39</sup>K NMR法により細胞内 K<sup>+</sup> を測定する事が可能であった。
- 3) 本 <sup>39</sup>K NMR法による心筋細胞内 K<sup>+</sup> の変化は冠流出液のイオン分析による細胞内 K<sup>+</sup> の変化と有意の正の相関を示した。
- 4) 以上より、modified IR法が非侵襲的、かつ連続的に心筋細胞内 K<sup>+</sup> を測定できることが示された。

### 論文審査の結果の要旨

心筋細胞内 K<sup>+</sup> の非侵襲的かつ連続的測定法として <sup>39</sup>K nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy が有用であるが、これまでの方法は化学シフト剤を併用したものであり、種々の問題を有している。

本研究はラット摘出灌流心を用いて細胞内 K<sup>+</sup> の spin-lattice (T<sub>1</sub>) 緩和特性が細胞外 K<sup>+</sup> のそれと異なる特徴を明らかにし、これを応用し化学シフト剤を使用しない <sup>39</sup>K NMR法を開発し、さらにこれを用いて代謝阻害時の心筋細胞内 K<sup>+</sup> の変動を連続的に測定し、その結果を冠流出液のイオン分析の結果と対比することにより本法の妥当性を検討したものである。その結果、心筋細胞内 K<sup>+</sup> の T<sub>1</sub>時間は細胞外 K<sup>+</sup> のそれに比し極めて短縮していることが明らかとなり、またこの緩和時間差を利用したパルス系列 (modified IR法) を用いることで化学シフト剤非使用下に <sup>39</sup>K NMR法により非侵襲的かつ連続的に心筋細胞内 K<sup>+</sup> が測定できることが示された。

以上より、本研究は心筋イオン代謝の解明に資するところ大であり、学位の授与に値するものと考えらる。