The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	虚血肝における細胞質酵素漏出過程に関する実験的研究 : ミトコンドリアからのカルシウム放出の関与
Author(s)	畑中, 信良
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38709
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

【 37 】

氏　　名	畑　中　信　良（はた　なか　のぶ　たか）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　10875　号
学位授与年月日	平成5年7月1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	**虚血肝における細胞質酵素漏出過程に関する実験的研究** **－ミトコンドリアからのカルシウム放出の関与－**
論文審査委員	（主査） 教授　松田　暉 （副査） 教授　鎌田　武信　　教授　岡本　光弘

論文内容の要旨

［目　的］

肝を虚血にすると，細胞内ATPの低下に伴って細胞質の遊離カルシウムイオン濃度が上昇すると考えられる。細胞質カルシウム濃度の上昇によって細胞骨格が脆弱化し，細胞膜にブレブを生じること，ブレブの崩壊の結果，細胞質酵素が漏出することはほぼ明らかになってきている。しかしこの虚血時の細胞質カルシウムイオン濃度上昇の機序については未だ不明な点が多く，特にカルシウムの細胞質への移動がどのような経路で生じるかは明かではない。そこで本研究は，ミトコンドリアがこの細胞質内のカルシウム動態に大きく関与しているとの仮説のもとに，無酸素潅流肝を用いて，ミトコンドリアからのカルシウム放出が細胞質内カルシウム濃度を上昇させ，ひいては細胞質酵素漏出過程に関与するか否かを明らかにすることを目的とした。

［方法ならびに成績］

体重250g前後の雄性SDラットを用い，肝潅流モデルを作成した。無酸素潅流中の酵素漏出量を測定するとともに，無酸素潅流開始直前および30分後に肝組織の一部を採取し，ミトコンドリア画分およびミクロソーム画分を作成した。ミトコンドリア画分には脱共役剤であるm-chlorocarbonyl cyanide phenylhydrazine（CCCP），ミクロソーム画分にはカルシウムイオノフォアであるA23187を加え放出されたカルシウム量をそれぞれのカルシウム含量とした。ミトコンドリア懸濁液内カルシウム濃度はAresenasoIII，ミクロソーム懸濁液内カルシウム濃度はFluo 3を用いて測定した。

1）無酸素潅流中の細胞質カルシウム濃度をモニターするために，その活性が細胞質カルシウム濃度によって制御される酵素であるphosphorylaseの無酸素中の活性の変化を測定した。その結果，phosphorylase活性は無酸素潅流早期に上昇した。また細胞内カルシウムキレーターBAPTA-AMの投与によって細胞質酵素漏出は抑制された。すなわち虚血肝においては細胞質カルシウム濃度が虚血の進行とともに上昇し，これが細胞質酵素漏出をもたらすと推察される。

2）カルシウム作動性ホルモンの投与，カルシウム拮抗剤（ニトレンジピン）の投与および潅流液からのカルシウム

除去，などを組み合わせ，ミトコンドリア内カルシウム含量の異なった6種の潅流肝を作成した。その後無酸素潅流を行い，ミトコンドリアからのカルシウム放出量，酵素漏出量を測定した。無酸素潅流中のミトコンドリアからのカルシウム放出量は予めカルシウム拮抗剤の投与，潅流液からのカルシウム除去を行うことによって減少し，カルシウム作動性ホルモンの投与によって増加した。細胞質酵素漏出量もこれと同様の変化を示した。このとき小胞体が含まれるミクロソーム内カルシウム含量，およびミクロソームからのカルシウム放出量は上記の操作によっても有意の変化を示さなかった。すなわち無酸素肝においては，ミトコンドリアからのカルシウム放出の多寡により，細胞質酵素漏出が影響されることが示唆される。

3）無酸素潅流開始後に，カルシウム拮抗剤の投与，または潅流液のカルシウム除去を行った。両群とも細胞質酵素漏出量は無処置群に比し有意の変化を示さなかった。すなわち無酸素肝での細胞質酵素の漏出過程には細胞外からのカルシウム流入の関与は少ないと推察される。

［総　括］

1. ラット無酸素潅流肝において，

1）phosphorylase 活性は早期に上昇した。

2）無酸素潅流前にカルシウム作動性ホルモンおよびカルシウム拮抗剤の投与または潅流液のカルシウム除去を行うことにより，ミトコンドリアからのカルシウム放出量は変化し，これに応じて細胞質酵素漏出量も変化した。

3）細胞外カルシウムの細胞質への流入の抑制は，細胞質酵素漏出量に有意の変化を与えなかった。

2. 以上より肝が虚血状態におかれた時の細胞質酵素漏出過程にはミトコンドリアからのカルシウム放出による細胞質内カルシウム濃度の上昇が関与すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

虚血肝における主要な細胞障害の指標である細胞質酵素漏出は細胞質遊離カルシウムイオン濃度の上昇によってもたらされると考えられている。本研究はこの細胞質カルシウム濃度の上昇過程についてラット潅流肝を用いて実験的に検討したものである。

その結果，カルシウム作動性ホルモンやカルシウム拮抗剤を用いて虚血中のミトコンドリアからのカルシウム放出量を増減させると細胞質酵素漏出量がこれに相応して変化することが示された。このとき小胞体からのカルシウム放出量は変化しなかった。また細胞外からのカルシウム流入を抑制しても細胞質酵素漏出量に変化は見られなかった。以上の成績は，虚血肝における細胞質カルシウム濃度の上昇にはミトコンドリアからのカルシウム放出が関与することを明らかにしたもので，虚血肝の状態を研究する上で貴重な知見であり，学位に値すると考えられる。