HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ラット灌流脳による酸素代謝の分光学的研究
Author(s)	野村, 保友
Citation	電子科学研究, 3, 69-71
Issue Date	1996-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/24350
Type	departmental bulletin paper
File Information	3_P69-71.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

ラット灌流脳による酸素代謝の分光学的研究

超分子分光研究分野　野　村　保　友

要　約

血液を含まないラット灌流脳を用いて低酸素時の神経活動とチトクロームオキシダーゼの酸化還元状態を検討した。低酸素により自発脳波はチトクロームオキシダーゼの酸化還元と関係なく抑制されるが，低酸素時に抑制性シナプスを遮断するとチトクロームオキシダーゼの酸化還元に強く依存した。脳波が完全に抑制される低酸素で強制的に活性化するとミトコンドリアのエネルギー産生に障害が起きた。酸素供給不足に対して脳はエネルギーを残してその活動を休止する。

イントロ

一般に脳への酸素供給が不足すると高エネルギーリン酸化合物は減少するが，解糖系の促進やクレアチンリン酸などによって大きな減少を避ける仕組がある。低酸素の時の脳機能の低下を検討するために，灌流脳モデルを用いて，呼吸鎖の末端酵素チトクロームオキシダーゼの酸化還元状態と脳の神経活動の関係を調べた。

Hoshi ら[1]は単離ミトコンドリアを用いて呼吸鎖の末端酵素であるチトクロームオキシダーゼのヘムと銅の異なる酸素依存性を報告した。銅は酸素濃度だけに依存するがヘムはエネルギー状態や呼吸速度にも依存していた。チトクロームオキシダーゼの分光測定を困難にするヘモグロビンを含まない脳灌流モデルを用いると，脳のヘムと銅の酸化還元状態の同時測定が可能になり，ミトコンドリアの酸素濃度ばかりでなくエネルギー状態を連続的にモニターできる。従来ほとんど報告されていない定量的に解析した脳波とチトクロームオキシダーゼの酸化還元状態の関係，あるいは興奮時と非興奮時のこれらの関係を明らかにしたい。

実験方法

Inagaki and Tamura[2] に従った。手短に述べると，内頸動脈から必要な酸素濃度に調製したフルオロカーボンを灌流して，脳波を記録しながらチトクロームオキシダーゼのヘムと銅をそれぞれ 605－622 nm と 830－780 nm で 2 チャンネルの 2 波長分光法で連続的にモニターした。

結　果

図 1－A に低酸素時の自発脳波とチトクロームオキシダーゼの酸化還元状態の関係を示した。灌流液の酸素濃度を低下させると自発脳波の振幅は減少したが，特にベータ波が弱くなった。ヘムと銅の酸化還元挙動は異なっており，ヘムは銅よりも強く還元された。低酸素による自発脳波の変化はチトクロームオキシダーゼの還元より敏感であり，自発脳波の抑制は酸化的リン酸化の影響をあまり受けていないと考えられた。

さまざまな酸素濃度で PTZ を投与して，発作の強さとチトクロームオキシダーゼの酸化還元状態の関係を調べた（図 1－B)。60%酸素化灌流では発作波は弱くヘムと銅はコントロールより強く還元されていた。図 2 に示したように 40%酸素化灌流では自発脳波は消失したが，PTZ によって弱く持続時間の短い発作波が出現した。再酸素化によって発作波は出現せず，ヘムは銅と同様に 1 相性に還元された。20%では発作を起こせないが再酸素化によって発作波が出現した。0 %では発作を起こさず，再酸素化によっても発作波は観察されなかった。酸素濃度の低下とともに PTZ による発作波は弱くなるが，コントロールとは異なり，ヘムの酸化還元に強く依存した。

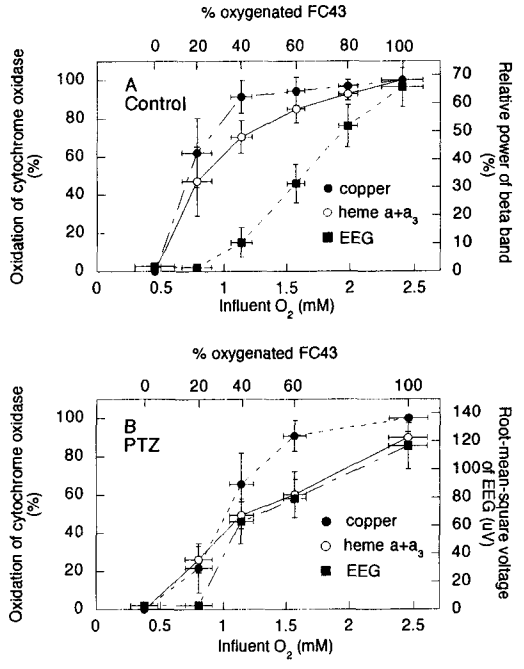

図1　低酸素時の神経活動とチトクロームオキシダーゼの酸化還元状態との関係　A. 自発脳波　B. PTZ に対する応答の強さ

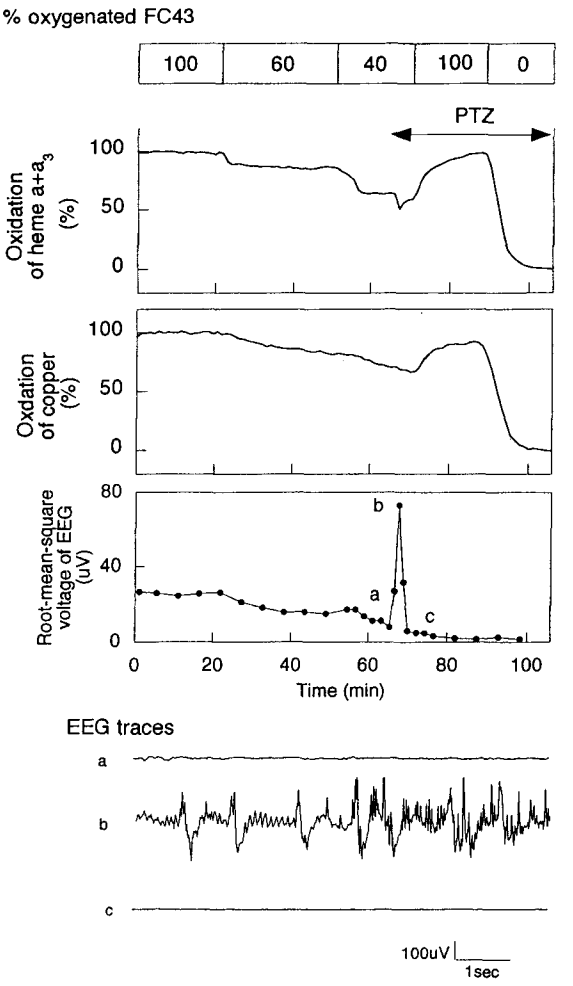

図2　脳波が完全に抑制される低酸素で投与した PTZ に対するチトクロームオキシダーゼの酸化還元状態と神経活動の応答

考　察

Matsunaga et al.[3] が報告しているように　Hoshi et al.[1] の in vitro calibration を灌流脳に適用すると脳組織の二つの異なるエネルギー状態を分光学的に観察することができる。(1) energized state にあるときにはヘムは銅よりも早く還元され三相性を示す。(2) uncoupled state にあるときにはヘムと銅は同じ還元曲線を示す。

図1－A に示したように 40%酸素化 FC 43 への酸素濃度の低下に伴って脳波はほとんど平坦になった。この条件では酸素消費速度だけがわずかに減少するがヘムと銅は 70%以上酸化されていた。これは脳組織がエネルギー不足になっていないことを示唆している。実際，図 2 では脳波が平坦になる厳しい低酸素でも PTZ の投与によって典型的なスパイクが現れた。しかし神経活動の活性化は予備の ATP を使い果たすことによって一過性のものだった。これは再酸素化によって神経活動が回復しないという図 2 の結果によって確かめられた。さらに再酸素化後の急性低酸素によってヘムと銅は一相性で還元された。これはミトコンドリアの脱エネルギー状態の特徴である。したがって，神経活動の抑制はエネルギー低下によるものではないと結論づけた。

PTZ は抑制性ニューロンの GABA antagonist として機能して実験的な発作を引き起こす。低酸素下では興奮性と抑制性ニューロンの両方の活性がすばやく低下することが報告されている。好気条件下で PTZ を投与すると興奮性ニューロンが，自発脳波では抑制性ニューロンが機能を低下させている可能性がある。さらにチトクロームオキシダーゼより酸素親和性が低い神経伝達物質に関係した酵素系の寄与も考えられる。

【参考文献】

[1] Hoshi, Y., Hazeki, O., and Tamura, M., J. Appl. Physiol., 74, 1622 (1993)

[2] Inagaki, M., and Tamura, M., J. Biochem., 113, 650 (1993)

[3] Matsunaga, A., Nomura, Y., and Tamura, M., Oxygen Transport to Tissue 17, 305 (1995)