

B-2 第2編 ライ症候群における脳浮腫の発生機構 ： ^{31}P 核磁気共鳴法による正常マウス脳の高エネルギーリン酸化合物の測定（予報）

研究協力者 小川 昭之 大分医大 小児科
共同研究者 石原 高信・山田 和廣 大分医大 小児科
田之倉 優 大分医大 生理学

I. はじめに

第1編において、ライ症候群急性期の筋ミトコンドリアではチトクロムC酸化酵素活性の低下と、オレイン酸の著増、リノール酸の増加がみられ、このことからミトコンドリア膜構成脂質の異常が本症の脳浮腫発症機構に何等かの役割を有する可能性が推定された。

そこで、非侵襲的、かつ非破壊的に生きたまま生体のエネルギー代謝を分析できる ^{31}P -核磁気共鳴法（以下 ^{31}P -NMR）を用いて、幼若および成熟マウスの脳内のアデノシン3リン酸（ATP）およびクレアチンリン酸（CrP）を測定し、健康正常マウスの脳内高エネルギーリン酸化合物の発達変化を知らんとした。

II 対象と方法

1. 対象

DDY系の雌マウスを用い、週齢3～4週、体重10.0～11.9gの幼若マウス4匹、週齢8週以降で体重27～32gの成熟マウス3匹を使用した。麻酔はペントバルビタール0.05 mg/gを腹腔内に注射した。

2. 装置、測定条件および測定方法

^{31}P -NMRはBruker社製WM200WBワイドボア・スペクトロメータで測定した。共鳴周波数は81MHzであり、測定条件はパルス幅33 μsec （約60°パルス）、繰り返し時間1秒、積算回数は幼若マウスが4096回、成熟マウスは1536回で行った。なお、繰り返し時間は、予備実験では1秒と2秒とでCrP/ATP値に明らかな差が認められなかったため、測定時間をなるべく短縮し、積算回数を増やしてS/N比を上げる為に1秒を採用した。

試料管は外径25mmで、開口端より換気用のビニール管を2本入れ、1本はエアポンプに連結して

ルームエアを送入し、残りの1本から排気させた。この試料管の中に頭部を先端にしてマウスを挿入し、頭部がプローブの検出コイルに一致するよう固定し、測定した。

3. ³¹P-NMR スペクトルと計測

図1に成熟マウスの頭部³¹P-NMR スペクトルの典型的な1例を示した。概ね6本のピークが分

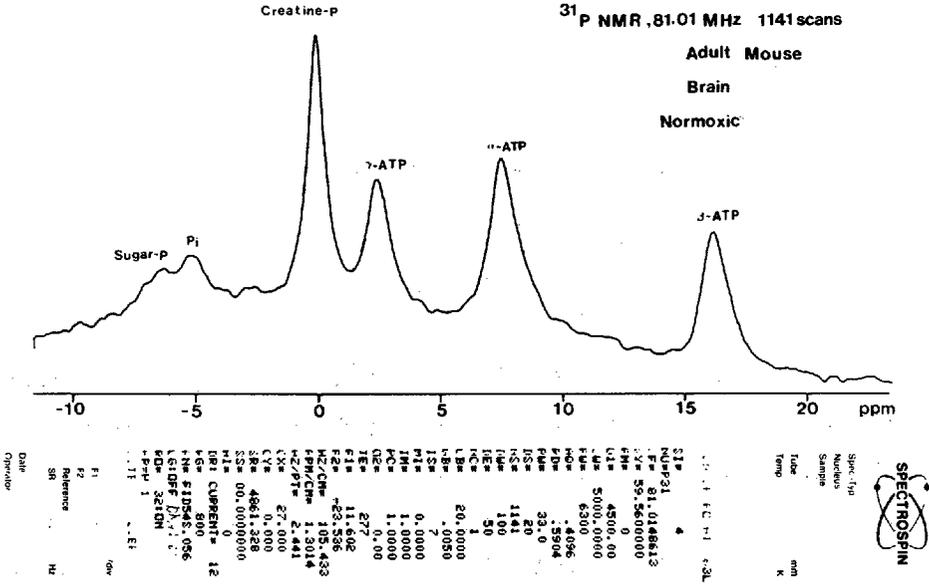


図1 成熟マウスの脳³¹P-NMRによるスペクトル

離されており、右よりβ-ATP、α-ATP、γ-ATPの各ピークの他に、creatine-phosphate (CrP)、無機リン (Pi) および sugar phosphate のピークがみられた。Creatine-phosphate と無機リンとの間には phosphodiester のピークがみとめられる場合もあった。CrP 値はピークのスペクトル面積として計測した。ATP 値は次の如く測定した。まず、α-ATP のピークはニコチナミド・アデニン・ジヌクレオタイド (NAD) を含むために除外した。一方、γ-ATP のピークはアデニン・2リン酸 (ADP) を含むが、予備実験でβ-ATP と比較してみるとγ-ATP の ADP 含量は左程問題とならないことがわかったので、今回の実験ではγ-ATP とβ-ATP との面積をそれぞれ測定してその平均値を ATP の値とした。さらに、CrP/ATP 値をそれぞれの面積比で求め、幼若マウス群と成熟マウス群との差を比較検討した。

Ⅲ 結 果

幼若マウス群ではCrP/ATP値は 0.884 ± 0.093 ，成熟群のそれは 1.116 ± 0.123 であった。成熟群でやや高値を示したが，統計学的には有意差が認められなかった（図2）。

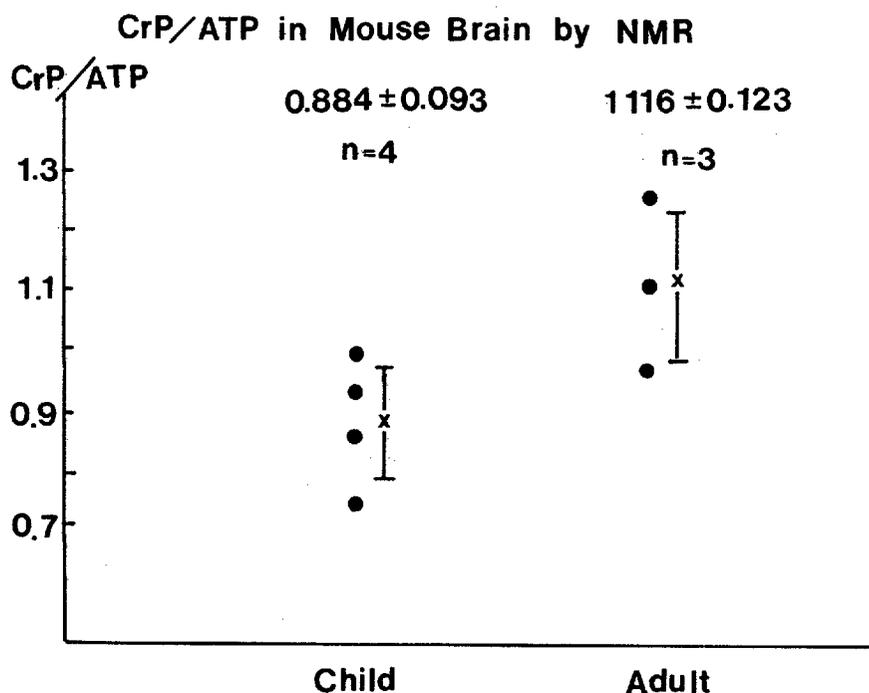


図2 子マウスおよび親マウスにおける³¹P-NMRより得られたPCr/ATP値

Ⅳ 考按と結論

1978年 Chance³⁾はマウスを生きたまま試料管に入れ，その頭部のリンのスペクトル検出に成功した。以来，組織片あるいは脳全体を灌流する方法²⁾，凍結脳による方法⁴⁾で脳の高エネルギーリン酸化合物を測定した報告がなされた。また，これらの方法を用いて低酸素状態による影響^{3,5)}や脳虚血状態の影響⁴⁾，さらには低血糖状態の報告⁵⁾もある。

我々は頭部から高エネルギーリン酸化合物のシグナルを測定したが，この方法では脳以外の組織，特に筋肉中のリン酸化合物からのシグナルの混入は避けがたい。事実，幼若，成熟各群ともに頭部の

筋肉の湿重量は脳の約1.5倍存在した。しかし、今回検出されたスペクトルでは筋肉では殆んど存在せず、脳のスペクトル上特徴的とされる⁶⁾ phosphodiester や sugar phosphate のスペクトルが認められ、さらに筋肉における高エネルギーリン酸化合物は CrP が大部分をしめ⁶⁾、その結果、CrP/ATP 値が高値をしめるのに、脳では ATP 値が高いために CrP/ATP 値は筋に比較して低い値を示す事、また、これまでのラット脳を用いた報告では CrP/ATP 値は1.55⁷⁾、1.5³⁾であること、などから考察すると、今回の我々の結果は脳からのシグナルが大部分をしめていると考えてよいと思われた。

上述の結果より、幼若群と成熟群との間の CrP/ATP 値は有意差を認めなかったが、幼若群の方に低値を示す傾向がうかがわれた。今後、例数をふやして検討せねばならないと考える。Norwood⁷⁾も、ラットの摘出灌流脳で日齢1～2日の仔ラットの方が、週齢4～5週の成熟ラットよりも CrP/ATP 値が低値を示すことを記載している。

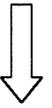
今後、脳摘出灌流等の方法により正確な脳からのシグナルを検出するとともに、生直後から成熟動物に至るまでの脳高エネルギーリン酸化合物の発達変化を追求し、それを基礎としてライ症候群実験モデル動物の脳内エネルギー代謝の経時的変化の検索も可能と思われる。

文 献

1. Chance, B., Nakane, Y., et al : Detection of ³¹P nuclear magnetic resonance signals in brain by in vivo and freeze-trapped assays. Proc. Natl. Acad. Sci. 75 : 4925-4929, 1978.
2. Nishikawa, H., Fujii, T. et al : ³¹P nuclear magnetic resonance study on perfused brain slice of guinea pig. J. Biochem, 87 : 663-666, 1980.
3. 湯浅龍彦, 宮武正, 桑原武夫他 : ³¹P核磁気共鳴法による生きたラットの脳における高エネルギーリン酸化合物 (ATP, クレアチンリン酸) の測定——ハロセン麻酔と低酸素状態の影響——. 脳神経, 35 : 1089-1095, 1983.
4. Delpy, D. W. G., et al : Noninvasive investigation of cerebral ischemia by phosphorus nuclear magnetic resonance. Pediatr., 70 : 310-313, 1982.
5. Cox, D. W., et al : ³¹P-n.m.r. studies on cerebral energy metabolism under conditions of hypoglycemia and hypoxia invitro. Biochem. J. 212 : 365-370, 1983.
6. Dawson, M. J., Wilkie, D. R. : Muscle and brain metabolism studied by ³¹P nuclear magnetic resonance. In Recent Advances in Physiology. P. Baker (Edit), Churchill Livingstone, p. 247-276, 1984.
7. Norwood, W. I., et al : Developmental changes of creatine kinase metabolism in rat brain. Am. J. Physiol. 244 : C205-C210, 1983.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



.はじめに

第1編において,ライ症候群急性期の筋ミトコンドリアではチトクロムC酸化酵素活性の低下と,オレイン酸の著増リノール酸の増加がみられ,このことからミトコンドリア膜構成脂質の異常が本症の脳浮腫発症機構に何等かの役割を有する可能性が推定された。

そこで,非侵襲的,かつ非破壊的に生きたまま生体のエネルギー代謝を分析できる P-核磁気共鳴法(以下 31P-NMR)を用いて,幼若および成熟マウスの脳内のアデノシン 3 リン酸(ATP)およびクレアチンリン酸(CrP)を測定し,健康正常マウスの脳内高エネルギーリン酸化合物の発達変化を知らんとした。