

学 位 論 文 題 名

低酸素性低酸素症における大脳と小脳

－脳幹部のエネルギー代謝の検討

学位論文内容の要旨

緒言

大脳と脳幹部の低酸素症に対する抵抗性の違いの原因は明らかでなく、直接脳組織の酸素化状態とエネルギー状態を大脳と脳幹部で比較検討した報告はない。今回は脳波、誘発電位の測定と同時に、ミトコンドリア内チトクロームオキシダーゼ (cyt. ox) の酸化率から直接細胞内の酸素濃度を測定できる近赤外分光法を用いて低酸素状態における大脳と小脳－脳幹部の cyt. ox. の酸化－還元状態を測定し、さらに高速液体クロマトグラフィ法で脳内アデノシン三リン酸(ATP)とグルコース、乳酸を測定し、脳の部位による低酸素症に対する抵抗性の差が脳内酸素化状態ならびにエネルギー状態の違いに起因するかを検討した。

方法

対象は雄のウィスターラット (週令 5-18 週, 体重 170-280g) で、人工呼吸器を装着してカルバミン酸エチル (ウレタン, 0.8g/kg) で麻酔した。

低酸素負荷は人工呼吸器で吸入ガスの酸素の割合 (FiO_2) を 0.21 から 0.04 ずつ約 4 分間毎に定常状態を保ちながら約 20 分かけて 0.00 まで低下させた。脳内 ATP, グルコース, 乳酸の測定の低酸素群は脳波が消失後 1 分から 2 分の間に、コントロール群は同量のウレタンで麻酔し空气中で 15 分間自発呼吸後、マイクロウェーブ照射を行った。

近赤外分光法による測定結果を大脳と小脳－脳幹部で比較するために、大脳の測定には頭蓋骨に照射用ライトガイドを設置し、口蓋骨に受光用ライトガイドを当てて大脳頭頂部から脳底部にかけて大脳全体の透過光を測定した (A 群)。小脳－脳幹部の測定には頭蓋骨後部に照射用と受光用のライトガイドを設置し小脳, 脳幹部の反射光を測定する (B 群) か、頭蓋骨後部に照射用ライトガイドを、頭蓋骨底部に受光用ライトガイドを当て小脳, 脳幹部の透過光を測定した (C 群)。各群の例数は A 群 12 例, B 群 7 例, C 群 5 例とした。

脳波、誘発電位は針電極を皮質に 1mm 刺入し、脳波 (EEG)、近赤外除去フィルターを付けたストロボで視覚誘発電位 (VEP)、体性感覚誘発電位 (SEP)、cortical SEP (C-SEP) と spinal SEP (S-SEP)、聴覚誘発電位 (BSR) を測定した。

脳内 ATP, グルコース, 乳酸の測定は雄のウィスターラット 13 匹 (低酸素群 9 匹, コントロール群 4 匹) で行った。脳内 ATP は高速液体クロマトグラフィ法 (HPLC 法) を用いて測定した。グルコースの測定は NADPH の生成量を測定する方法で、乳酸の測定は同様に NADH の生成量を測定する方法で行った。

cyt. ox. の酸化率の検定は ANOVA (Scheffe's F 検定)、消失時間のばらつきの検定は Mann-Whitney's U 検定、脳内 ATP, 乳酸、グルコースの測定結果の検定は ANOVA (Fisher's F 検定) を用いた。 $p < 0.05$ を有意とした。

結果

1. 低酸素負荷時における脳波、誘発電位と脳内酸素化状態

(1) 大脳と小脳-脳幹部における変化

FiO₂が 0.12 から 0.08 にした時点で cyt. ox. の還元が始まり (細胞内酸素分圧約 0.2mmHg), cyt. ox. の酸化-還元状態は曲線的に低下した. FiO₂を 0.00 にすると cyt. ox. の酸化率が 15%から 10%に低下した時点 (細胞内酸素分圧約 0.015mmHg) で, 血圧の急激な低下と脳内血液量の急速な減少を認めた. 同時に測定した脳波および誘発電位は VEP, C-SEP, EEG, BSR, S-SEP の順に消失した. 小脳-脳幹部の反射光(B群)と透過光(C群)では cyt. ox. の酸化率は大脳より遅れて還元が始まる同様の曲線的变化を示し, 両者の差はなく, 両者を総括したデータ(B+C)を小脳-脳幹部の結果とした.

(2) 大脳と小脳-脳幹部の比較

脳波と誘発電位の消失時期は大脳および小脳-脳幹部とも cyt. ox. の酸化率に依存していた. そこで大脳と脳幹部-小脳の酸素化状態をを比較するために脳波, 誘発電位の消失時点の cyt. ox. の酸化率を比較検討した. 大脳(A)と小脳-脳幹部(B)+(C)における低酸素負荷で脳波, 各誘発電位が認められなくなった時点での cyt. ox. の酸化率を平均±標準誤差で比較すると, それぞれ VEP は 32±15%に対して 22±17%, C-SEP は 23±7.4%に対して 14±8.6%, EEG は 15±4.0%に対して 6±5.3%, BSR は 8±3.3%に対して 2±2.6%, S-SEP は 4±3.4%に対して 0%であった. 実験時間は FiO₂ を 0.21 にしてから 0.00 にするまでの時間を比較すると (A) : 19.6±1.1 分, (B) + (C) : 19.9±1.9 分で有意差無く, また脳波, 各誘発電位の消失時間についてのばらつきは C-SEP 以外は大脳と小脳-脳幹部で有意差はなかった.

II. 低酸素負荷における脳内 ATP の変化

脳波が消失してから BSR が認められなくなるまでの時間は平均 94 秒であったためマイクロウェーブを照射する時期を脳波消失後 1-2 分とした. ATP はコントロール群, 低酸素群ともに各部位間に有意差はなかったが皮質で若干高く, 脳幹部, 小脳と皮質下組織は同程度の値であった. 各部位のコントロール群と低酸素群との比較では低酸素群で有意に減少し, その値は皮質がやや高く, 他の部位では同程度の値であった.

III. 低酸素負荷における脳内グルコース, 乳酸の変化

グルコースは, 皮質ではコントロール群に対して低酸素群で有意な減少が認められた ($p < 0.05$). 低酸素群の各部位間の比較では皮質と脳幹部 ($p < 0.02$) および皮質と小脳 ($p < 0.01$) の間に有意差が認められ, 皮質より脳幹部および小脳でグルコースはより高い値を示した. 乳酸は各部位とも低酸素群で有意な増加を認めた. 低酸素群の各部位の間の比較では皮質と脳幹部 ($p < 0.05$), 皮質と小脳 ($p < 0.02$) および皮質と皮質下組織 ($p < 0.01$) の間に有意差が認められ, 乳酸は皮質より脳幹部, 小脳, 皮質下組織でより高かった.

考案

低酸素状態では大脳皮質の関与する VEP, C-SEP, EEG が脳幹機能を反映する BSR, 末梢神経機能を反映する S-SEP より早期に消失することが報告されている. 今回の実験でも FiO₂ の低下に伴って VEP, C-SEP, EEG, BSR, S-SEP の順で消失した. しかもそれぞれの消失時期と cyt. ox. の酸化率から得られた細胞内酸素濃度の間には密接な関係が認められ, BSR の消失が VEP, C-SEP, EEG の消失より細胞内酸素濃度がより低下した時点で生じることが確認された. 従って脳波と誘発電位に反映される神経細胞の電気生理学的機能は細胞の酸素化状態に依存していると考えられた. 脳波, 誘発電位が消失する時点の細胞内酸素濃度を比較すると, 大脳より小脳, 脳幹部の細胞内酸素濃度の方が低く, 小脳, 脳幹部の方が大脳よりも細胞内が低酸素の状態になっていた. しかも VEP は大脳の cyt. ox. の酸化率が 32%程度で消失したのに対し, BSR は小脳-脳幹部の cyt. ox. の酸化率が 2-8%に低下するまで消失しなかったことから, 小脳, 脳幹部には大脳より細胞内が低酸素になってもその電気生理学的な機能を維持できる何らかの機構が存在することが示唆された. 脳内 ATP, グルコース, 乳酸の結果から脳幹部にある神経細胞は電気生理学的な機能を維持するために, 皮質の細胞より嫌気性解糖によるエネルギー代謝が活発に行われている可能性がある

と思われる。従って脳幹部では低酸素血症がかなり進行するまで好氣的代謝が行われるが、更に酸素供給が減少すると供給されるグルコースを使用して解糖系からエネルギーを得て限界まで機能し続ける機構が存在すると思われる。しかし大脳皮質では比較的早期に電気生理学的活動の消失を生じ、それがエネルギー不足によるためではなく、大脳皮質の抑制機構によると考えられる。この抑制機構によってエネルギー消費は最小限に抑えられ、低酸素状態での解糖系の寄与は脳幹部に比べて少ないと推測される。乳酸が大脳皮質より脳幹部で著明な増加を示したことは、このことを支持する所見と思われる。生命維持に必要な中枢が集まっている脳幹部は限界まで機能する必要がある、このような反応性の差は発生の段階でプログラムされた合目的的なものと思われる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 林 邦 彦
副 査 教 授 田 代 邦 雄
副 査 教 授 劔 物 修

学 位 論 文 題 名

低酸素性低酸素症における大脳と小脳

－脳幹部のエネルギー代謝の検討

大脳と脳幹部の低酸素症に対する抵抗性の違いの原因は明らかでなく、直接脳組織の酸素化状態とエネルギー状態を大脳と脳幹部で比較検討した報告はない。申請者は脳波、誘発電位の測定と同時に、ミトコンドリア内シトクロームオキシダーゼ(cyt.ox)の酸化率から直接細胞内の酸素濃度を測定できる近赤外分光法を用いて低酸素状態における大脳と小脳－脳幹部の cyt.ox. の酸化－還元状態を測定し、さらに脳内 ATP とグルコース、乳酸を測定し、脳の部位による低酸素症に対する抵抗性の差が脳内酸素化状態ならびにエネルギー代謝の違いに起因するかを検討した。【方法】対象は雄のウイスターラットで、人工呼吸器を装着してウレタンで麻酔した。低酸素負荷は吸入ガスの酸素の割合 (FiO_2) を 0.21 から 0.04 ずつ約 4 分間毎に定常状態を保ちながら約 20 分かけて 0 まで低下させた。脳内 ATP、グルコース、乳酸の測定には、脳波が消失後 1 分から 2 分間にラットをマイクロウェーブ照射し、脳を摘出して行った。近赤外分光法による大脳の測定には頭蓋骨に照射用ライトガイドを設置し、口蓋骨に受光用ライトガイドを当てて大脳頭頂部から脳底部にかけて大脳全体の透過光を測定した。小脳－脳幹部の測定には頭蓋骨後部に照射用と受光用のライトガイドを設置し小脳・脳幹部の反射光を測定するか、頭蓋骨後部に照射用ライトガイドを、頭蓋骨底部に受光用ライトガイドを当てその透過光を測定した。電気生理学的機能として、脳波(EEG)、視覚誘発電位(VEP)、体性感覚誘発電位(SEP)、cortical SEP(C-SEP)と spinal SEP(S-SEP)、聴覚誘発電位(BSR)を測定した。脳内 ATP の測定は高速液体クロマトグラフィ法、グルコース、乳酸の測定は NADPH の生成量を測定した。【結果】 FiO_2 が 0.08 にした時点で cyt.ox. の還元が始まり曲線的に低下した。 FiO_2 を 0 にすると cyt.ox. の酸化率が 15% から 10% に低下した時点で、血圧の急激な低下と脳内血液量の急速な減少を認めた。同時に測定した脳波および誘発電位は VEP, C-SEP, EEG, BSR, S-SEP の順に消失した。脳波と誘発電位の消失時期は大脳および小脳－脳幹部とも cyt.ox. の酸化率に依存していた。脳波が消失後の脳内 ATP はコントロールに比べ低酸素群で有意に減少したが、その値は皮質が

やや高く、他の部位では同程度の減少であった。グルコースも低酸素群で有意な減少が認められた($p < 0.05$)、低酸素群の各部位間の比較では皮質と脳幹部($p < 0.02$)および皮質と小脳($p < 0.01$)の間に有意差が認められ、皮質より脳幹部および小脳でより高い値を示した。乳酸は各部位とも低酸素群で有意な増加を認めた。低酸素群の各部位の間の比較では皮質と脳幹部($p < 0.05$)、皮質と小脳($p < 0.02$)および皮質と皮質下組織($p < 0.01$)の間に有意差が認められ、乳酸は皮質より脳幹部、小脳、皮質下組織でより高かった。【考案】低酸素状態では大脳皮質の関与する VEP, C-SEP, EEG が脳幹機能を反映する BSR, 末梢神経機能を反映する S-SEP より早期に消失することが報告されている。今回の実験でもそれが確認された。しかもそれぞれの消失時期と cyt.ox.の酸化率から得られた細胞内酸素濃度の間には密接な関係が認められ、BSR の消失が VEP, C-SEP, EEG の消失より細胞内酸素濃度がより低下した時点で生じることが確認された。即ち、脳波と誘発電位に反映される神経細胞の電気生理学的機能は細胞の酸素化状態に依存していると考えられた。脳波、誘発電位が消失する時点の細胞内酸素濃度を比較すると、大脳より小脳、脳幹部の細胞内酸素濃度の方が低く、小脳、脳幹部の方が大脳よりも細胞内が低酸素の状態になっていた。しかも VEP は大脳の cyt.ox.の酸化率が 32%程度で消失したのに対し、BSR は小脳-脳幹部の cyt.ox.の酸化率が 2-8%に低下するまで消失しなかったことから、小脳、脳幹部には大脳より細胞内が低酸素になってもその電気生理学的な機能を維持できる何らかの機構が存在することが示唆された。脳内 ATP, グルコース, 乳酸の結果から脳幹部にある神経細胞は電気生理学的な機能を維持するために、皮質の細胞より嫌気性解糖によるエネルギー代謝が活発に行われている可能性があると思われる。従って脳幹部では低酸素血症がかなり進行するまで好氣的代謝が行われ、更に酸素供給が減少すると供給されるグルコースを使用して解糖系からエネルギーを得て限界まで機能し続ける機構があると思われる。生命維持に必要な中枢が集まっている脳幹部は限界まで機能する必要がある、このような反応性の差は発生の段階でプログラムされた合目的的なものと思われる。

公開発表に際して、副査の劔物教授から、脳幹部の代謝が残る現象と血流の関係、回復過程での実験、大脳と脳幹部の ATP の差について、副査の田代教授から、脳死判定における近赤外や BMR の有効性、脳の嫌気性代謝について、脳波の感度について、主査の小林邦彦教授から低酸素負荷の体循環と脳循環の関係、in vivo と in vitro 実験の差などの質問があったが、申請者は何れの質問に対しても、自らの実験結果と文献を引用して、適切に回答した。

本研究は、低酸素負荷における大脳と脳幹部の変化を、電気生理学的機能、近赤外による脳内酸素化状態、及び脳内代謝産物の解析から検討し、脳幹部の低酸素抵抗性はその部の神経細胞の嫌気性解糖優位性に起因する可能性を明らかにした。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。