短 報

ラット灌流心臓における一酸化炭素ミオグロ
ビンの二波長分光光学的測定A Dual Wavelength Spectrophotometric
Measurement of Carboxymyoglobin in
Rat Perfused Heart

急性および慢性の一酸化炭素 (CO) 暴露の心機能への影響に関して、一酸化炭素ヘモグロビン (COHb) の形成を介する影響のほか、心筋自体に対する直接的な作用が存在する^{1,2)}。また、実際の CO 中毒において、循環機能障害の程度は、予後を大きく左右する³⁾。われわれは、ラット灌流心臓を用い、生理的状态に近い条件で、心筋ミオグロビン (Mb) に対する CO の結合について分光光学的に観察した。

実験方法

1. 心臓の灌流：ラット心臓の摘出および灌流法は Langendorff 法により行ない、灌流装置および諸計測器は北海道大学応用電気研究所設置のもの^{4,5)}を使用した (Fig. 1)。灌流液は Krebs-Ringer bicarbonate に 2.5 mM Ca および 10 mM glucose を加えて用い、灌流圧は 80 cmH₂O、液温は 25°C に保持した。実験中は、心拍数 (HR)、心電図 (ECG) および左室圧 (LVP) を常時モニターした。灌流液中の酸素分圧は灌流回路内にクラーク電極を装着し、また、流量は灌流液用に補正した電磁血流量计により、それぞれ連続的に測定した。

各種気体の投与は、95% O₂~5% CO₂, 100% N₂, および 100% CO の各種気体で飽和した灌流液を用い、フィダーポンプによりさまざまな割合で混入させて行なった。

2. 酸素ミオグロビン、一酸化炭素ミオグロビンの分光光学的測定：Mb の分光光学的測定は、田村らの方法^{4,5,7)}に従った。Fig. 1 に示したように、光源はヨウ素ランプを用い、第1のライトパイプの一端から入光し、灌流心の表面を照射し、組織からの反射光は、同様に第2のライトパイプによって導き、ライトパイプの分岐により二方向に分け、さらにそれぞれ光学フィルターにより、580 nm および 620 nm の光を選択し、光電子増倍管によって測光した。拍動によるアーティファクトの除去は、オシロスコープを用いて、620 nm の reference 光が、拍動に伴う光学条件の変化を補正できる条件を求め、580~620 nm の二波長分光分析を演算回路を用いて行なった。

Fig. 1. Schematic diagram of rat heart perfusion system and experimental apparatus. EFM=electromagnetic flowmeter, PT=pressure transducer, OS=oscilloscope, PM=photomultiplier, Amp=amplifier, OF=optical fibers, F1=heat-cut filter, F2=filter (587 nm), F3=filter (620 nm), and AC=analog computer

Fig. 2. Changes of O₂-Mb saturation, O₂ tension in perfusate, and left ventricular pressure caused by N₂ administration.

酸素ミオグロビン (O₂Mb) および一酸化炭素ミオグロビン (COMb) の酸素および一酸化炭素飽和度は、灌流液を 95% O₂~5% CO₂ で飽和した状態における O₂Mb を 100%, COMb を 0% とし、100% N₂ で飽和した状態を O₂Mb 0%, 100% CO で飽和した状態を COMb 100% とした。

結 果

Fig. 2 は、N₂ 分圧を段階的に増加させた場合の結果で、N₂ により O₂ 分圧を減じた場合、N₂ 分圧を 0 mmHg から 204 mmHg まで上昇させても、O₂Mb の酸素飽和度に変化はなく、ほぼ 100% 飽和の状態を保っていた。HR はやや徐脈になり、LVP はやや増加する傾向にあったが、ECG 波形に変化は認められなかった。

Fig. 3 に、CO 分圧を 0 mmHg から 207 mmHg まで増加させた場合の結果を示した。CO 分圧の段階的な増加に対し、COMb も段階的に増加した。HR はやや

Fig. 3. Changes of O₂-Mb saturation, O₂ tension in perfusate, and left ventricular pressure caused by CO administration.

徐脈となったが、LVP, ECG に変化は認められなかった。

考 察

灌流心臓が、生理的状态に近いエネルギー代謝を保持し、N₂ による hypoxia では、O₂ 濃度が、およそ 10 μM 以下になるまでは、O₂Mb の飽和度に明らかな減少は認められないとされており^{6,7)}、本報の結果においても、N₂ 分圧 204 mmHg では O₂Mb% に変化は認められなかった。

しかしながら、CO による O₂ 供給の低下では、CO 7 mmHg ですでに変化がはじまり、34 mmHg では、明らかな O₂Mb の減少と COMb の形成が認められた。

CO と Mb の結合に関して、今回の実験結果は、CO 分圧の直線的な増加に対し、対応する COMb の増加は直線的ではなかったが、見かけ上の分配係数はおよそ 10 であった、抽出された Mb における O₂ と CO との分配係数は、およそ 20~30 とされているが、*in vivo* では、O₂ 分圧が、50 mmHg 以下と、それ以上では、COHb と COMb の比が異なるという報告がある⁸⁾。おそらく、生体内にあっては、抽出された Mb の場合と異なり、見かけ上の分配係数は、固有の分配係数とは別の値をとり、しかも、常に一定値をとるものではなく、生体内諸条件によって変化するものであらうと考えられる。

本研究に関し、ご懇篤なるご指導を賜りました北海道大学応用電気研究所生体物理学教室教授山崎勇夫先生ならびに助教授田村守先生に、心からの謝意を表します。

文 献

- 1) Mcgrath, J. J. and Martin, L. G.: Effects of carbon monoxide on isolated heart muscle, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 157: 681-683, 1978.
- 2) Davis, D. M. and Smith, D. J.: Electrocardiographic changes in healthy men during carbon monoxide exposure, *Environ. Res.*, 21: 197-206, 1980.
- 3) Matthew, H. and Lawson, A. A. H.: Treatment of common acute poisonings, 56-62, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1975.
- 4) Tamura, M., Araki, R., Ishikawa, T., Sagisaka, K. and Yamazaki, I.: Direct observation of reduction of met- and ferrylmyoglobins in the hemoglobin-free perfused rat heart, *J. Biochem.*, 88: 1211-1213, 1980.
- 5) 荒木隆一郎, 田村 守, 山崎勇夫: 剔出灌流心を対象とした光学測定系について, 応用電気研究所報告, 32: 8-14, 1980.
- 6) Chance, B., Salkovitz, I. A. and Kovach, A. G. B.: Kinetics of mitochondrial flavoprotein and pyridine nucleotide in perfused heart, *Am. J. Physiol.*, 213: 207-218, 1972.
- 7) Tamura, M., Oshino, N., Chance, B. and Silver, I. A.: Optical measurements of intracellular oxygen concentration of rat heart *in vitro*, *Arch. Biochem. Biophys.*, 191: 8-22, 1978.
- 8) Coburn, R. F., Ploegmakers, F., Gondrie, P. and Abboud, R.: Myocardial myoglobin oxygen tension, *Am. J. Physiol.*, 224: 870-876, 1973.

高野健人*, 宮崎良文*, 荒木隆一郎**

* 東京医科歯科大学衛生学教室

** 北海道大学応用電気研究所生体物理

Takehito TAKANO†, Yoshifumi MIYAZAKI† and Ryūichirō ARAKI††

† Department of Hygiene, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, 113 Japan

†† Research Institute of Applied Electricity, Hokkaidō University

昭和55年10月11日受付

通信先: 高野あて, Reprint requests to T. Takano