



Very long-chain fatty acid pattern in crush syndrome patients in the Kobe Earthquake

三輪, 篤子

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1999-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1969

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001969>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	三輪篤子（東京都）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	博い第1213号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与の日付	平成11年3月31日
学位論文題目	Very long-chain fatty acid pattern in Crush syndrome patients in the Kobe Earthquake (阪神大震災におけるクラッシュ症候群患者の極長鎖脂肪酸の発現)
審査委員	主査 教授 龍野嘉紹 教授 水野耕作 教授 岡田安弘

論文内容の要旨

1. はじめに

クラッシュ症候群とは crush（押しつぶす）injury に因って起こる腎不全を伴った一連の症候群で、具体的には身体の一部の長時間の圧迫により圧迫部位での筋の疎血による融解壊死が生じ局所的な麻痺と急性腎不全を呈する筋融解により筋組織内の CK（creatine phosphokinase）が血液中に放出され、血清 CK 値は著明高値を示す。同症候群は地震や爆発による建物の崩壊の時の瓦礫の下に長時間閉じこめられ救出された後発症する。1995年1月17日に発生した兵庫県南部地震においては全壊家屋約10万棟、半壊家屋約10万棟、死者5502人に上った（自治省調査）。震災当日から1月31日までの15日間に入院治療を受けた5569例のうちクラッシュ症候群患者は372例発生し、50例（13.4%）が死亡した（大阪大学調査）。そこで私は、クラッシュ症候群を重量物などの血管圧迫による血流途絶と救出後の血流再開による急激な酸素供給により生じる虚血一再灌流障害とみなしその膜障害を赤血球膜脂質から検索することを試みた。阪神大震災時に負傷し、神戸大学付属病院に搬送され、治療中のクラッシュ症候群患者のうち4例の赤血球膜脂質をガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）を用いて調べた。

2. 方法及び対象

（対象）

入院中のクラッシュ症候群患者4人を対象とした。第一例は、60歳の男性、左半身を5時間圧迫を受けたため腰椎圧迫骨折と左下肢の圧挫傷を生じたが約2ヶ月後に退院した。第二例は、78歳の男性、両下肢を4時間圧迫を受けたため両下肢の圧挫傷と第一腰椎の骨折を生じ下半身の完全麻痺でその後リハビリ目的で退院した。第三例は、43歳男性、右下肢を12時間圧迫を受けたため、しびれを合併する右下肢の圧挫傷を生じたが、約3ヶ月後に退院した。第四例は、48歳の男性、両下肢を8時間圧迫を受けたため両下肢の圧挫傷を生じた。重篤な浮腫、腎不全に陥り人工血液透析を施行されたが創部からの感染で敗血症となり多臓器不全で地震発生4ヶ月後に死亡した。一方、健常人男女5例を対照として用いた。

(方法)

健常人及び入院中の患者から受傷7週間後に静脈血5mlを採取した。遠心にて赤血球を分画し、そこに蒸留水を添加し溶血させた。溶血液を35,000回転で超遠心を行い、上清を除去した。数回繰り返し赤血球膜沈渣を分取した。Folch法にて抽出し、抽出液を窒素気流下蒸発乾固させ赤血球膜の粗脂質を得た。5%-塩酸メタノールにてメタノリシス後GC-MS分析を行った。島津GC-MSQP5000, メガボアカラムDB-1(長さ30m, 内径0.53mm)を用いた。カラム温度は、140℃から毎分4℃昇温。イオン化電圧は70eV。入院時及び7週間後に血液検査を行った。血清 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LD), creatine kinase (CK), 血中尿素窒素 (BUN), 血清 creatinine (Cr) の6項目である。

3. 結果

4例は、いずれも筋肉が高度に挫滅を受けていた。血液検査値は入院時、CKは4例中3例が緊急の測定限界値(1793)を越え、LD, AST 及び ALT も高値を示した。7週間後の血液検査値について、第1～第3例は正常に戻ったが第4例はLD, 841; CK, 286; BUN, 71; Cr, 5.6で正常値よりかなり高くさらに2ヶ月後に死亡した。

クラッシュ症候群患者と健常人から得た赤血球膜リン脂質をGC-MS分析し比較した。極長鎖脂肪酸(炭素数24以上)の蓄積が見られた。患者にのみ33.8分にピークAが、又、34.4分にピークBが出現した。ピークAとBのマススペクトルをとると、ピークBは M^+ が410, $M-43$, m/z 143を持つので炭素数26の飽和脂肪酸と推定され、市販のC26:0の標品と保持時間及びマススペクトルが一致したのでC26:0と同定した。次にピークAは M^+ が408であるのでC26:1であると推定された。天然には末端から9位に二重結合を有する脂肪酸(例:オレイン酸)が多いので、末端から9位すなわちcis-17-C26:1を合成し標品とした。ピークAと保持時間及びマススペクトルが一致したのでピークAはcis-17-hexacosenoic acid methyl ester であると同定した。SIM(selected ion monitoring)により定量した。用いたイオンはC22:0は m/z 354, C24:1は m/z 348, C24:0は m/z 382, C26:1は m/z 367, C26:0は m/z 410, C31:0(内部標準物質)は m/z 480であった。C22:0に対する極長鎖脂肪酸の比をとると、C24:1/C22:0は患者では 4.28 ± 0.68 (平均値 \pm 標準偏差), 健常人では 2.51 ± 0.27 ; C26:1/C22:0は患者では 1.72 ± 0.25 , 健常人では 0.24 ± 0.06 ; C26:0/C22:0は患者では 0.22 ± 0.02 , 健常人では 0.13 ± 0.02 でありいずれも患者のほうが健常人よりも有意に高い値を示した。一方C24:0/C22:0は患者では 2.43 ± 0.28 , 健常人では 2.34 ± 0.27 であり両者の間に有意差はなかった。

4. 考察

今回はクラッシュ症候群患者の赤血球膜から極長鎖脂肪酸のC26:1とC26:0を検出し同定した。C26:0は市販品があるがC26:1は市販されていないのでその構造決定まで行った報告は少ない。

脂肪酸の β 酸化はミトコンドリアとペルオキシソームで行われている。ペルオキシソームにおける β 酸化は4つの反応によって構成されており、第4段階の反応のperoxisomal acetyl-transferase すなわちperoxisomal thiolaseは極長鎖脂肪酸の基質特異性を示すことがミトコンドリアにおける β 酸化と相異なる。炭素数24以上の脂肪酸は極長鎖脂肪酸(very long-chain fatty acid)とよばれ、もっぱらペルオキシソームの β 酸化系酵素により酸化される。従ってペルオキシソームが先天的に欠損するか、又は、ペルオキシソームの β 酸化系酵素が欠損すると生体膜に極長鎖脂肪酸が蓄積することが報告されている。一方、臨床症状として、ペルオキシソームの欠損するZellweger症候群では生下時より

全身の筋緊張性低下，特有の顔貌，黄疸，肝硬変，痙攣，精神運動発達遅滞により生後数カ月以内に死亡する。また X 染色体連鎖劣性遺伝疾患の副腎白質ジストロフィーではペルオキシソームのリグノセリン酸（C24：0）酸化活性の欠損があると推測され，大脳白質の広汎な脱髄，副腎皮質機能障害が起こり，痙攣，筋緊張性低下，発育遅延，肝硬変もみられる。このように極長鎖脂肪酸が生体膜に蓄積すると脳，肝，腎等の臓器に機能障害を引き起こす。これまでは極長鎖脂肪酸の生体膜への蓄積はペルオキシソームの欠損又は機能障害により起こる先天性代謝異常でみられる現象であると考えられていたが，私は阪神大震災で多発したクラッシュ症候群患者の赤血球膜に極長鎖脂肪酸の C26：1，C26：0，C24：1 の蓄積を認めた。これまでクラッシュ症候群という外傷性の障害で極長鎖脂肪酸が蓄積したという報告は見られない。

クラッシュ症候群は，受傷により壊死細胞からミオグロビン等の分解産物により全身障害が生じる。また，著明な血圧降下によりショック状態となり高度の腎障害を併発するとこれまで考えられてきた。一方，クラッシュ症候群は虚血－再灌流障害の 1 つであり，血流再開により供給された酸素から生じた活性酸素種が細胞傷害を惹起し血管の透過性を亢進させ腎障害へ進行すると最近考えられている。ペルオキシソームにおける β 酸化反応律速段階である acyl-CoA oxidase は虚血再灌流に脆弱であるので，その際極長鎖脂肪酸が蓄積する可能性が考えられ，今回の症例で調べたところ蓄積を実証した。今回クラッシュ症候群を生体膜傷害という観点からとらえた。

結論

1. 阪神大震災において発症したクラッシュ症候群患者の赤血球膜リン脂質中に C24：1，C26：1，C26：0 等極長鎖脂肪酸の蓄積を認めた。C26：1，C26：0 を GC-MS により同定した。
2. クラッシュ症候群を虚血－再灌流障害という観点からとらえ，血流再開により供給された酸素から生じた活性酸素種によりペルオキシソーム内 β 酸化酵素 acyl-CoA oxidase が障害を受けたために極長鎖脂肪酸が蓄積したと考えられた。

論文審査の結果の要旨

クラッシュ症候群を重量物などの血管圧迫による血流途絶と救出後の血流再開による急激な酸素供給により生じる虚血－再灌流障害とみなしその膜障害を赤血球膜脂質から検索することを試みた。阪神大震災時に負傷し，神戸大学附属病院に搬送され，治療中のクラッシュ症候群患者のうち 4 例の赤血球膜脂質をガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）を用いて調べた。

第 1 例は，60 歳の男性，左半身を 5 時間圧迫を受けたため腰椎圧迫骨折と左下肢の圧挫傷を生じたが約 2 ヶ月後に退院した。第 2 例は，78 歳の男性，両下肢を 4 時間圧迫を受けたため両下肢の圧挫傷と第一腰椎の骨折を生じ下半身の完全麻痺でその後リハビリ目的で退院した。第 3 例は，43 歳の男性，右下肢を 12 時間圧迫を受けたため，しびれを合併する右下肢の圧挫傷を生じたが，約 3 ヶ月後に退院した。第 4 例は，48 歳の男性，両下肢を 8 時間圧迫を受けたため両下肢の圧挫傷を生じた。重篤な浮腫，腎不全に陥り人工血液透析を施行されたが創部からの感染で敗血症となり多臓器不全で地震発生 4 ヶ月後に死亡した。一方，健常人男女 5 例を対照として用いた。健常人及び入院中の患者から入院時及び受傷 7 週間後に静脈血 5 ml を採取した。超遠心を行い，赤血球膜沈渣を分取した。Folch 法にて抽出し，粗脂質を得，GC-MS 分析を行った。血液検査値は入院時，CK（creatin kinase）は 4 例中 3 例が緊急の測定限界値を，LD（lactate dehydrogenase），AST（aspartate aminotransferase）及び ALT（alanine aminotransferase）も高値を示した。7 週間後の血液検査について，第 1～第 3 例は正常

に戻ったが第4例は正常値よりかなり高くさらに2ヶ月後に死亡した。

クラッシュ症候群患者と健常人から得た赤血球膜リン脂質をCG-MS分析し比較した。患者にのみピークAとBが出現し、保持時間とマススペクトルを標品と比較して、AはC26:1、Bは26:0であると同定した。次に、極長鎖脂肪酸C24:1、C26:0、C26:1のC22:0に対する比をとると、いずれも患者の方が健常人よりも有意に高い値を示したことから、患者には極長鎖脂肪酸の蓄積が見られた。

これまでは極長鎖脂肪酸の蓄積はペルオキシソーム欠損等の先天性代謝異常で見られる現象であると考えられていたが、本研究ではクラッシュ症候群という外傷性の障害で、赤血球膜リン脂質中にC24:1、C26:1、C26:0など極長鎖脂肪酸の蓄積を明らかにしたものであり、重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって本研究は、博士(医学)の学位を得る資格があると認める。