

氏 名 (本籍)	おお  わ だ  やす  お 大 和 田  康  夫
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 第 9 6 2 号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和 5 2 年 2 月 2 3 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
最 終 学 歴	昭 和 4 3 年 3 月 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業
学 位 論 文 題 目	閉 塞 性 黄 疸 肝 に お け る ア ン モ ニ ア 代 謝 に つ い て

( 主 査 )

論 文 審 査 委 員 教 授 佐 藤 寿 雄 教 授 吉 永 馨  
教 授 菊 地 吾 郎

# 論文内容要旨

## 研究目的

教室における閉塞性黄疸手術217例のうち、直接死亡は80例(37%)にみられ、そのうち肝不全死は14例(17%)とかなり高率にみられている。アンモニアはしばしば指摘される肝不全因子であり、肝不全との関連において多くの検索がなされている。しかし閉塞性黄疸患者の血中アンモニア値は著しく高いものではなく、塩化アンモニウム経口投与方法によるアンモニア負荷試験を行ってみたが、閉塞性黄疸例では肝硬変の如き変化を示さず正常肝と同様にアンモニア処理能の低下はみられなかった。そのためか閉塞性黄疸肝におけるアンモニア処理に関する報告は少ない。そこで著者はWistar系ラットの総胆管を切離結紮して閉塞性黄疸肝を作成し、肝尿素サイクルの律速酵素である Arginine Synthetase 活性(以下AS活性と略す)を測定し同時に肝スライスによる尿素生成量とアンモニア処理量について検討を加えた。また、これと比較する意味で20%四塩化炭素オリーブ油溶液投与24時間後の肝を用い同様の実験を行った。

## 実験方法

1. AS活性: Brown & Cohen らの方法に準じ overall reaction system を用いた。
2. 尿素生成量及びアンモニア処理量: Marsh らの medium に塩化アンモニウム ( $\text{NH}_3\text{-N}$ として  $3.8 \mu\text{mole}$ ) を添加し肝スライスを約  $300 \text{mg}$  加え、 $37^\circ\text{C}$  1時間 incubate した後 medium 中の尿素量及びアンモニア量を各々 Archibald 法、奥田・藤井法にて測定した。対照としてアンモニアを含まない medium にて同様の操作を加え、対照との差より尿素生成量及びアンモニア処理量を算定した。
3. ATP, オルニチン添加効果: 前項の medium に ATP  $5 \mu\text{mole}$ , オルニチン  $10 \mu\text{mole}$  を添加し、同様に尿素生成量, アンモニア処理量を算定した。
4. 血液生化学的検査: 肝を採取する際同時に心穿刺により血液を採取し、血中アンモニア, 血清ビリルビン, GOT, GPT, Al-p の測定を行った。

## 実験成績

1. AS活性: 閉塞1週より有意の低下を示し、その後4週まであまり変化はみられなかったが、6週では著しい低値を示した。対照群と1週群は危険率5%, 対照群と6週群は危険率0.5%で有意であった。四塩化炭素障害肝では対照群よりは危険率2.5%で有意の活性低下を示すが、6週群よりは1%の危険率で有意の高値を示した。
2. 肝スライスによる尿素生成量は、胆管閉塞期間の延長とともに徐々に減少を示した。一方四塩化炭素障害肝では尿素生成量は著明な低

下を示した。アンモニア処理量は胆管閉塞群では3週群を除きいずれも対照群に比し有意に低下を示したが、閉塞期間との関係は明らかではなかった。四塩化炭素障害肝では尿素生成量と同様著しい低値を示した。3. ATP, オルニチンの添加効果：尿素生成量は, ATP, オルニチンの添加より増量を示したが, 閉塞期間の延長とともに添加効果がみられなくなった。アンモニア処理量は, ATP添加によりかえって減少を示し, オルニチン添加では各群とも1.2~1.6倍の増量のみられた。更に両者の添加により1~3週群では変化はみられなかったが, 6週群では無添加例の約30%の減少のみられた。これに対し, 四塩化炭素障害肝では尿素生成量はATP, オルニチンの添加により著明に増量を示し, 特に両者の添加では4.7倍と著明であった。アンモニア処理量は, ATP添加ではアンモニアはほとんど消費されずかえってmedium中にアンモニアが増加している例のみられた。オルニチン添加では1.5倍の増量を示したが, 両者の添加では6週群と同様無添加例の約30%の減少のみられた。4. 肝機能検査ではいずれも胆管閉塞2~3週でピークに達し, それ以後の著しい増加はみられなかった。またGOTの著しい上昇に比べGPTの上昇は軽度であった。一方四塩化炭素障害肝ではGOT, GPT, Al-pは著しい高値を示したが, 血清ビリルビン値の上昇は軽度であった。血中アンモニア値は1週から3週まで対照群とほとんど変りないが, 4週群及び6週群では高値を示した。

## 結 語

閉塞性黄疸ラット肝の尿素サイクルを中心とするアンモニア代謝について検索し, 四塩化炭素障害肝のそれと比較検討し次の如き結果を得た。1. 閉塞性黄疸肝では胆道閉塞期間の延長とともにアンモニア処理能, 尿素生成能が低下し, 特に閉塞6週群では対照の2/3前後となった。2. AS活性も同様に低下し, 6週群では対照の1/3となった。3. 四塩化炭素障害肝ではアンモニア処理能, 尿素生成能の低下は閉塞性黄疸肝より著明であった。AS活性は対照の75%で比較的良好に保持されていた。4. 尿素サイクルの回転には酵素のみならず, そのメンバーやエネルギー源としてのATPなどにも支配されるが, ATPおよびオルニチンの添加効果からみると, 閉塞性黄疸肝では閉塞早期にはこれらの添加により尿素生成量は明らかに増加するが, 閉塞6週群ではこの添加効果は明らかに減弱していた。四塩化炭素障害肝では添加効果は著明であったが, 添加前値が極めて低いため絶対量の増加は軽度であった。

以上の成績より, 閉塞性黄疸肝では尿素サイクル酵素活性が低下し, その回転のためのエネルギーや基質を添加してもそれに対する反応は次第に低下し予備力に乏しいこと, 即ち尿素サイクルが潜在的回転不全の状態にあるものと解釈された。したがって胆道閉塞が長期におよぶ例では, その病態は異なるが, 四塩化炭素障害肝に匹敵する肝不全準備状態にあり, 循環不全や低酸素状態などの誘因で容易に肝不全に陥るものと推定された。

## 審査結果の要旨

本研究では閉塞性黄疸例における肝不全発生の機序を明らかにするためにラットを用いて閉塞性黄疸を作成し、尿素サイクル律速酵素であるArginine synthetase (AS)活性と肝スライスによるアンモニア処理能を検索し、四塩化炭素障害肝のそれと比較している。その結果、(1)閉塞性黄疸肝では胆道閉塞期間の延長とともに尿素生成能、アンモニア処理能は低下すること、(2)AS活性値も同様に低下し、閉塞6週群では対照の $\frac{1}{3}$ となること、(3)四塩化炭素障害肝ではアンモニア処理能、尿素生成能は著しく低下し閉塞性黄疸肝よりも高度であったが、AS活性値は対照群の75%と、比較的良好に保持される、(4)ATPおよびオルチニンを添加すると閉塞性黄疸肝では尿素生成量は明らかに増加するが、閉塞6週になるとこの増加は軽微となること、(5)四塩化炭素障害肝では添加による増加は著明であるが、添加前値が極めて低いため絶対量の増加は軽度であること、などの成績を得ている。

これらの実験成績は閉塞性黄疸肝では尿素サイクル酵素活性自体が低下することにより尿素サイクルの回転のためのエネルギーや基質を添加してもそれに対する反応は閉塞期間の延長とともに低下することを示している。以上の成績から尿素サイクルは潜在的な回転不全の状態にあって予備力は著しく少ないものと推論している。したがって臨床例においても胆道閉塞が長期にわたる場合は、その病態は異なるが、肝壊死に匹敵する肝不全準備状態にあり、循環不全や低酸素状態などの誘因で容易に肝不全に陥るとの結論を誘導している。

従来、各種肝疾患の病態に関する多数の研究があるが、閉塞性黄疸の肝病態の検索は極めて少なくその肝不全発生の機序も明らかではなかった。本研究ではその点に着目し、主たる肝不全因子であるアンモニア処理経路の酵素活性および基質さらには消費されるエネルギーなどの変化を詳細に検索し、前述のごとき肝不全発生機序の一面を解明している。よって本論文は学位授与に値するものと認める。