

氏 名 (本籍) ち は とし お
 千 葉 敏 雄

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1 4 9 6 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 5 8 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 5 0 年 3 月
 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 ラ ッ ト 肝 再 生 時 の D N A 合 成 に 対 す る ア ミ ノ
 酸 お よ び E n e r g y S o u r c e の 影 響

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 葛 西 森 夫 教 授 佐 藤 寿 雄

 教 授 菊 地 吾 郎

論文内容要旨

I 研究の目的

手術などの侵襲により損傷を受けた組織の修復治癒過程における栄養素の重要性は、低栄養、特に慢性のたん白質栄養障害時に創傷治癒遅延がみられ、手術後の創傷開、縫合不全などの合併症発生の頻度が高まることから明らかである。本研究では、創傷治癒過程におよぼす栄養条件変動の影響を検討するために、創傷治癒実験のモデルとしてラットにおける実験的肝再生をとりあげ、主にそのDNA合成過程に注目した。たん白質欠乏ラットにおける肝再生時のDNA合成についてはこれまで諸家の報告がみられ、DNA合成の開始または細胞周期の回転速度が遅延するとするもの、特に変化は受けないとするもの、さらにDNA合成が抑制されるとするものなどにわかれており未だ明確な結論は得られていない。そこで、ラット肝再生時における栄養条件がDNA合成に与える影響について明確にすることが、創傷治癒過程における栄養素の重要性を検討する上でも有意義と考え今回の実験を企図した。

II 研究の方法

たん白質栄養障害の肝再生過程への影響を検討するために、ラットを3日間無たん白食あるいは普通食で飼育し、Higgins and Andersonの方法により70%部分肝切除を施行した。術後も術前と同様の食餌を与えつつ経時的に再生肝を剔除し、その肝再生過程を ^{14}C -チミジンの肝DNAへの取り込み量および肝再生時に誘導されてくるDNA前駆体であるピリミジンヌクレオチド合成系の諸酵素活性変動の面より検討した。しかし経口自由摂食実験では栄養素の摂取量の把握が困難であるため、ラットを24時間絶食後70%部分肝切除を施行すると同時に、外頸静脈よりシリコンラバーカテーテルを上大静脈に留置しswivelを用いつつ、代謝ケージ内において無拘束下に栄養素の持続点滴、即ちtotal parenteral nutrition (TPN)を行なった。このTPNによる実験系では36時間目の再生肝について、経口摂食実験で測定したと同様のDNA合成系酵素、特にRibonucleotide reductaseの活性誘導について検討した。

III 研究の結果および考察

無たん白食飼育ラットにおいては、普通食飼育ラットと比較すると再生肝での ^{14}C -チミジンの肝DNAへの取り込み亢進の開始、ピーク時(36時間)の取り込み率ともに抑制されており、さらにDNA合成の前駆体となるピリミジンヌクレオチド合成経路の種々の酵素(dThd kinase, dTMP kinase, Urd-Cyd kinase, Ribonucleotide reductase, dCMP deaminase)の活

性誘導も著明に抑制されており、これらの諸酵素のなかでも特に Ribonucleotide reductase 活性の誘導抑制が最も著しく、殆んどその活性を認めなかった。一方、RNA 合成系に主に働らく Orotate phosphoribosyltransferase や CTP synthetase、ヌクレオシド分解系にも働らく Urd または dThd phosphorylase、DNA polymerase の活性誘導については、たん白質欠乏ラットにおいても有意差を認めなかった。次にラットに TPN を施行し 36 時間目の再生肝について、主な酵素活性誘導の面より検討した。まず等しい量のアミノ酸（濃度 4%）投与という条件下でグルコースの投与量を変えてみた場合（濃度 21% および 5%）、dThd kinase、dTMP kinase、Ribonucleotide reductase 活性の誘導には有意差がみられなかった。次にほぼ等しい量のグルコース（濃度 21% および 25%）投与の条件下でアミノ酸の投与量を変えた場合（濃度 4% および 0%）、アミノ酸を与えない群において dThd kinase、dTMP kinase、Ribonucleotide reductase の活性誘導がいずれも著明に抑制され、特に Ribonucleotide reductase の誘導は殆んど認めなかった。一方、絶食によりグルコースもアミノ酸をも奪ったラットの 48 時間目の再生肝では、TPN においてグルコースとアミノ酸の双方を十分に与えた（濃度各々 21%、4%）ラットと同様の充分な Ribonucleotide reductase の活性誘導がみられた。従って、Ribonucleotide reductase をはじめとする前記諸酵素の誘導に対し、アミノ酸投与は促進的に、グルコース投与は抑制的に作用すると思われる。次いで、TPN においてグルコースとアミノ酸の投与量を等しくし、アミノ酸を必須と非必須とにわけて Ribonucleotide reductase 誘導をみると、必須アミノ酸投与ラットの再生肝で高い活性がみられ、さらにこの実験で用いた 10 種類の必須アミノ酸（His, Arg, Lys, Trp, Phe, Met, Leu, Ile, Val, Thr）のうちの 1 つずつを除いて Ribonucleotide reductase の活性誘導について比較検討した結果、ラット再生肝における本酵素活性の誘導には、Trp および Met を中心としてその他に 5 種類の必須アミノ酸（Phe, Leu, Ile, Val, Thr）の投与が重要であると思われた。

審 査 結 果 の 要 旨

千葉 敏 雄

ラットに部分肝切除を施行すると残存肝の急速な再生が起り、短期間で切除前と同等の肝重量を回復することはよく知られている。このような肝再生については、非腫瘍性細胞増殖および創傷治癒研究のモデルとして従来多くの研究がなされてきたが、いまだその機序については不明な点が多い。また栄養条件特に蛋白質投与の変動が、肝再生に伴うDNA合成およびDNA合成系諸酵素の誘導過程に与える影響についても、これまでいくつかの報告がみられるが、今日なお定説がない。本研究はこのような未解決の問題を検討することにより、いくつかの新知見を得ている。また従来ラットを用いる栄養実験は経口摂食によるものが多く栄養素摂取量の厳密なコントロールが不充分であったが、本研究ではラットで完全静脈栄養をおこなうことにより、このような問題点を解決していることも注目される。

まず無蛋白食で餌育することにより蛋白質欠乏状態においたラットで再生肝への ^{14}C -thymidine のとり込みを経時的に追跡することにより、蛋白質摂取量の低下が肝再生時のDNA合成を抑制することを明らかにした。さらに本研究では肝再生時に誘導されてくるDNA合成系諸酵素活性を経時的に測定しており、それによると orotate phosphoribosyltransferase, CTP synthetase, DNA polymerase, uridine phosphorylase, thymidine phosphorylase 等の酵素誘導は無蛋白食飼育ラットでもあまり差異はなく、一方 ribonucleotide reductase, thymidine kinase, dCMP deaminase, dTMP kinase, uridine kinase の活性誘導が無蛋白食飼育により抑制され、特に ribonucleotide reductase においては抑制が著明で、殆んど活性が認められなかったとの知見を得ている。ribonucleotide reductase は従来より肝再生時のDNA前駆体供給に律速的役割を果たしていると考えられており、この知見はきわめて興味あるものと思われる。本研究ではさらに、この経口的な蛋白質欠乏によるDNA合成系酵素活性の誘導抑制が、真に外因性のアミノ酸投与の低下のみによるものか否かを検討するために完全静脈栄養を施行し、種々の栄養素投与のバランスを変えて実験を行っている。それによると肝再生時のDNA合成系酵素誘導にはグルコースではなくアミノ酸の投与が必要であり、アミノ酸を投与しないラットでは各種酵素とくに ribonucleotide reductase の誘導が著明に抑制されていたという。また ribonucleotide reductase の活性誘導には種々のアミノ酸のなかでも必須アミノ酸、特に Trp, Met を中心としてその他 Phe, Thr, Val, Ile, Leu が重要な役割を果たしていることも示唆している。このように本研究は肝再生時におけるアミノ酸、特に Trp, Met の重要性について重要な新しい知見を提供するとともに、その生化学的意義についても考察を加えたものであり、学位授与に値するものと認めるものである。