

氏 名 (本籍) 　　いま　　おか　　よう　　いち
今　　岡　　洋　　一

学 位 の 種 類 　　医　　学　　博　　士

学 位 記 番 号 　　医　　第　　1 5 7 8　　号

学位授与年月日 　　昭和 5 9 年 2 月 2 2 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 1 年 3 月
東北大学医学部医学科卒業

学位論文題目 　　肝硬変時の高 Tyrosine 血症における肝 Tyrosine
aminotransferase の意義に関する実験的研究

(主 査)

論文審査委員 教授 佐藤 寿雄 教授 多田 啓也

教授 後藤 由夫

論文内容要旨

目 的

肝硬変症は種々の原因による肝細胞壊死後に起こる、び慢性の肝細胞機能不全であり、種々の代謝障害を伴う。肝硬変症における血中アミノ酸の変動はTyrosine (Tyr) Phenylalanine (Phe)等の芳香族アミノ酸(AAA)の増加とValine (Val), Leucine (Leu), Isoleucine (Isoleu)等の側鎖型アミノ酸(BCAA)の減少が特徴的であるとされる。BCAAの減少の主たる原因は、慢性低栄養状態において末梢筋組織でのBCAAの取りこみが増加するためと説明されており、これに高インスリン血症が関与するとの説も多い。一方AAAの増加に関しては肝での代謝能の低下によるとされているが、その詳細は未だ明らかでない。著者はこの機序の解明のため、実験的に作成したラット硬変肝を用いて、Tyr代謝経路の律速酵素であるTyrosine aminotransferase (TAT)を測定し、血中アミノ酸の変動、肝組織像とあわせて検討した。

方 法

1) 肝硬変モデル 体重160g前後のSD系雄性ラットに0.3% Thioacetamide (TAA) 溶液を経口投与し、肝硬変モデルを作成した。これらのラットを、TAA投与開始2ヶ月後より1ヶ月毎に屠殺し、実験材料を得た。2) 組織学的検索 摘出した肝の一部で光顕標本を作成した。また、肝実質細胞と類洞とのPoint counting法により肝実質容積比(Lp)を求めた。3) TAT活性測定 肝の一部を細切し、0.25 M Sucrose (pH 7.4) + 0.1 mM EDTAにて10~20%のHomogenateを作成、これを超遠心して得られた上清を粗酵素液とし、Diamondstone (1966)の方法に従ってTAT活性を測定した。4) 血中遊離アミノ酸測定 日本電子製JLC-8AHアミノ酸自動分析機を用い、カラムクロマトグラフィー法により測定した。5) 血液生化学的検査 総ビリルビン、アルカリフォスファターゼ、GOT、GPT、血清総蛋白、蛋白分画、ヘパプラスチンテスト等の項目を検索した。

成 績

1) TAA投与による肝硬変モデル作成 肝の肉眼所見では、2ヶ月投与群はほぼ正常と変わらず、3~4ヶ月でび慢性の小結節形成を示すものが出現した。5ヶ月投与群ではほぼ全例に再生結節を思わせる大小不同の結節形成を認めた。組織学的には2~3ヶ月投与群で広範な肝細胞壊死、脂肪変性、軽度の細胞浸潤を認め、5ヶ月投与群ではほぼ全例にやや幅の狭い間質に囲まれた再生結節が著明にみられ、乙型肝炎を思わせる所見であった。肝実質容積比は投与期間の延

長と共に低下する傾向を認め、5ヶ月投与群で対照群の約80%前後と有意の低下を示した。2) 血液生化学的検査成績 ヘパプラスチンテストはTAA投与群全例とも70%以下に低下し、投与期間の長いものほどより低下する傾向を認めた。その他の項目では有意の変動はみられなかった。3) TAT活性 粗酵素液蛋白量(mg)当たり、肝単位重量(g)当たりでは何れも同様の傾向で、2～4ヶ月投与群では対照群の約90%前後と軽度の低下に留まったが、5ヶ月投与群以降では50%前後と有意の低下を示した。全肝重量当たりでは前2者ほど著明な変動はみられなかった。4) 血中遊離アミノ酸 総アミノ酸は2ヶ月投与群で対照群に比して有意の増加を示したが、以後減少して4ヶ月投与群以降では対照群と差はなかった。AAAはTyr, Phe共に対照群に比し有意の増加を示した。しかし、何れも2ヶ月投与群が最も高く、以後漸減する傾向を示し、TAT活性の変動とは異なるパターンであった。このためTyr濃度とTAT活性の間には負の相関を示す傾向はあったが有意ではなかった。BCAAはValが3ヶ月投与群以降でやや低下する傾向を示したほか、ほとんど有意の変動は認められなかった。このためBCAA/AAAのモル比(MR)はAAAの変動を反映して動き、2ヶ月投与群で最も低値を示した。その他のアミノ酸には特定の傾向は認められなかった。

結 語

Thioacetamide長期経口投与により作成した肝硬変ラットを用い、肝組織中TAT活性及び血中アミノ酸組成を中心に検討し、以下の結果を得た。1) 組織学的には5ヶ月投与で肝硬変が完成し、肝実質容積比は明らかに低下したが、ヘパプラスチンテストの低下を除いて肝機能に有意の低下は認められず比較的軽症の肝硬変と考えられた。2) 本モデルでの血中アミノ酸組成はAAAの有意の増加を示したが、BCAAには明らかな変動はみられなかった。3) 肝組織中TAT活性は正常群に比べ明らかに低下しており、血中Tyrosine増加の原因の一つと考えられた。しかし、Tyr濃度とTAT活性の間には有意の相関関係は認められなかった。

審査結果の要旨

肝硬変症における血中アミノ酸不均衡は、芳香族アミノ酸の増加及び側鎖型アミノ酸の減少が特徴的であるとされており、これらの変動、特に芳香族アミノ酸の増加が肝性脳症を惹起するという偽性神経伝達物質説が発表されて以来、この方面の研究が広く行なわれている。そして、この偽性神経伝達物質説をふまえて、側鎖型アミノ酸を高濃度としたアミノ酸輸液を用いて血中アミノ酸不均衡を是正することにより肝性脳症を改善させたとの報告も数多い。これらのアミノ酸不均衡の原因、とくに芳香族アミノ酸増加の原因は、肝における代謝能の低下によるものと考えられてはいるが、その詳細は未だ明らかにされていない。

Tyrosine aminotransferase (TAT) は芳香族アミノ酸の1つであるTyrosineの代謝経路の律速酵素であるが、本研究では、本酵素の活性をTyrosine代謝能の指標として用い、Thioacetamide (TAA) 長期経口投与により作成したラット硬変肝における本酵素活性の変動を血中アミノ酸の変動、肝組織像等とあわせて検討し、興味ある知見を得ている。

まず、TAA投与により組織学的には5ヶ月で明らかな再生結節を有する肝硬変が完成し、肝実質細胞容積も著明に減少した。またTAT活性は、組織学的に肝硬変の明らかとなった5ヶ月投与群で対照群の50%前後と著明な低下を示し、硬変肝でTyrosine代謝能が著明に低下していることが明らかにされた。しかし、本モデルにおける高Tyrosine血症は臨床例にみられるほど著明なものではなく、また2~4ヶ月投与群でより高値を示す傾向があったため、TAT活性と血中Tyrosine濃度の間には有意の相関関係は認められなかった。その他のアミノ酸にはほとんど有意の変動はなく、側鎖型アミノ酸にも明らかな低下は認められなかった。以上の成績から、実験的肝硬変モデルラットの肝TAT活性は肝細胞障害の進行とほぼ一致して低下することが示され、肝硬変時のアミノ酸代謝異常の1つの側面が明らかとなったといえる。しかし、血中Tyrosineの変動とTAT活性の変動は必ずしも相関しなかったことから、TAT活性の低下のみで血中Tyrosineの上昇を説明することはできないと考えられた。

本研究では、対象が動物モデルに限られており、ここで得られた知見をもとに、さらに臨床例におけるTyrosine代謝の検討がなされるべきであることはいうまでもない。しかし今日まで、実験的肝硬変モデルを用いてTyrosine代謝を検討した研究はみられない。今回のような実験モデルにおいて肝障害の進行とほぼ一致してTyrosine代謝が低下することを確認できた点は高く評価されるものである。よって本研究は学位授与に値すると認める。