

氏 名 (本籍)	きく 菊	ち 池	じゅん 淳
学 位 の 種 類	医	学	博 士
学 位 記 番 号	医	第	1899 号
学位授与年月日	昭和 62 年 2 月 25 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 55 年 3 月 東北大学医学部医学科卒業		
学 位 論 文 題 目	硬変肝切除後の肝再生における肝ミトコンドリア 膜脂質過酸化の意義		

(主 査)

論文審査委員 教授 佐 藤 寿 雄 教授 後 藤 由 夫

教授 林 典 夫

論文内容要旨

目 的

硬変肝切除後の肝再生は、肝硬変合併肝癌の外科治療における重要な問題点の一つである。肝再生や肝細胞代謝に必要とされるエネルギーの約90%はミトコンドリア（以下Mt）で供給されるが、正常肝切除後の残存肝Mtはエネルギー需要の増大に伴い機能亢進状態となることが知られている。しかし一方、Mt膜はその構成成分として特に多価不飽和脂肪酸を多量に含有し膜自身が自動酸化を受けやすい条件を備えているため、何やかな原因で脂質過酸化が進行すると膜構造の崩壊・機能蛋白質の変性につながり、Mt呼吸能は障害されると考えられている。故に肝切除後における残存肝組織中の脂質過酸化の亢進は、特に肝硬変の場合Mtの機能さらには再生に与える影響の点から注目される。そこで著者は、肝切除後の再生過程においてMt膜の脂質過酸化がいかなる形でエネルギー代謝ひいては再生に影響を及ぼすのかを、硬変肝の場合を中心に検討した。また脂質過酸化の抑制の目的で α -tocopherolを投与したときの肝切除後Mt呼吸能に対する影響も合わせて検討した。

方 法

実験動物としてSD系雄性ラットを用い、正常群として250~300gのもの、肝硬変群としては150g前後で購入後0.04% thioacetamide水溶液を6ヶ月間飲料水として投与したもののうち組織学的に肝硬変と認められたものとした。I) 正常及び肝硬変のラットにHiggins-Andersonの方法で $\frac{2}{3}$ 肝葉切除及び $\frac{1}{3}$ 肝葉切除を施行し、以下の4群を作製した。1群：正常 $\frac{2}{3}$ 肝切除群（以下Hpx群）、2群：正常 $\frac{1}{3}$ Hpx群、3群：肝硬変 $\frac{2}{3}$ Hpx群、4群：肝硬変 $\frac{1}{3}$ Hpx群。これら4群について肝切除直後に5% glucose 20 ml/kgを皮下注にて投与し、前及び術後12, 24時間、3, 5, 7, 14日目の各時期に12時間の絶食ののち心穿刺により腕血死させ、血液を生化学的検査に供しまた肝を素早く採取して湿重量を測定するとともに以下の測定にあてた。①肝復元率〔残存肝重量×切除割合(%) / 切除肝重量〕及び肝重量/体重比。②肝Mt呼吸能。Mt浮遊液を作製しクラーク電極式溶存酸素濃度記録計を用いてMt呼吸曲線を記録した。これより呼吸調節(RC)、ADP/O比(P/O ratio)、state 3呼吸酸素消費速度(S_3)、ATP生成能を算出した。③肝Mt蛋白量。Lowry法にて測定した。④肝Mt分画過酸化脂質値(以下LP値)。真杉によるTBA法にて測定した。II) 上記1, 3群のラットに肝切除の前日と切除直後に free dl- α -tocopherolを40 mg/kgずつ筋注にて投与し、肝切除後1, 3, 5日目に上記I)と同様に検索した。また肝組織中の α -tocopherolをHPLC法にて定量した。

結 果

①肝復元率は、正常 $1/3$ 、 $2/3$ Hpx 群及び肝硬変 $1/3$ Hpx 群では順調に回復し14日目ではほぼ90%に達したが、肝硬変 $2/3$ Hpx 群では7日目以降で回復が遷延し14日目でも71.3%と有意な低値を示した。肝重量/体重比の回復も肝硬変 $2/3$ Hpx 群で遅延した。②血清GOT値は4群とも12~24時間後にピークに達したのち5日目までにはほぼ前値に復した。またピーク値は肝硬変ほどそして $2/3$ Hpx 群ほど高値であった。③肝Mt 蛋白量は、正常 $1/3$ Hpx 群では肝切除後7日以降回復したのに対し $2/3$ Hpx 群では14日目でもなお低値を持続した。また肝硬変では前値で正常の76%と低値であったが、 $2/3$ Hpx 群ではこれが更に低下し14日目で $1/3$ Hpx 群に比して有意な低値を示した。④正常肝のMt 呼吸能はRC、ATP生成能とも1日目にピーク値となり5日目に最低となったがその後次第に前値に復した。全経過中 $2/3$ Hpx 群が $1/3$ Hpx 群より高値を示した。Mt 分画LP値は $2/3$ Hpx 群では12時間目に、 $1/3$ Hpx 群では緩徐な上昇のあと3日目にピーク値に達し前者が後者の1.3倍であった。⑤硬変肝のMt 呼吸能は前値がRCで正常の80%、ATP生成能で87%に低下していた。肝切除後RC、ATP生成能ともに $1/3$ Hpx 群で12時間目にピークに達したが、 $2/3$ Hpx 群ではピークが3日目と遅延しその後低下に転じて14日目でもなお回復は認められなかった。Mt 分画LP値は前値で正常の3.7倍と高値であったが、 $2/3$ 及び $1/3$ Hpx 群とも24時間でピークに達しともに5日目まで低下したのち再び緩徐に上昇した。5日目までの早期には $2/3$ Hpx 群が高値（ピーク値で1.6倍）を示したが5日以降は差がなかった。⑥ α -tocopherol の投与により肝組織中の α -tocopherol 濃度が上昇し、正常・肝硬変ともに肝切除後のLP値の上昇が抑制された。またともに1日目のRCの有意の改善を認めた。

結 語

硬変肝では切除前に既にMt は脂質過酸化をうけMt 呼吸能も低下していたが、肝切除により一層Mt 膜LP値は増加しMt のエネルギー代謝が障害された。特に $2/3$ Hpx 群でMt 呼吸能の亢進が遅延して、さらに5日以降の再生の障害も高度であった。これより5日目までの早期の脂質過酸化の亢進がその後の再生に影響を与える可能性が推察された。そこで α -tocopherol を投与して脂質過酸化を抑制すると、24時間目のMt 呼吸能の改善が認められ、再生に有利となる可能性が示唆された。

審査結果の要旨

肝ミトコンドリア（以下Mt）は、肝切除後再生においてエネルギー代謝の中心的役割をはたすとされており、正常肝切除後には代償的機能亢進状態となることが知られている。しかし実地臨床面で問題となる担癌母体としての硬変肝では、Mt機能の低下が順調な肝切除後再生の障害をもたらすと考えられる。

本研究では、肝切除後の残存肝Mtにおけるエネルギー代謝の乱れを、Mt膜のラジカル反応に帰因するものと考え、肝切除後のMt膜過酸化脂質値とMt呼吸能の推移から、脂質過酸化の亢進がいかなる形で再生過程に影響を及ぼすのかを検討している。また予め、thioacetamide経口投与によるラットの慢性肝障害モデルの検討から、肝硬変におけるMt呼吸能の障害と過酸化脂質値の上昇を、組織学的なgrade別に割り出し、本研究における肝硬変モデルとして一定のレベルの硬変像を呈するものに限定したことで個体によるバラツキを抑えていると言える。

実験は、正常及び肝硬変ラットに対して、それぞれ1/3及び2/3肝切除を施行し、術後14日目までの経時的なMt呼吸能（呼吸調節・ADP/O比、state 3呼吸酸素消費速度、ATP生成能）とMt膜過酸化脂質値（真杉法）を測定し、さらに肝重量の還元率からみた肝再生度を算出することに重点が置かれている。これによれば次の如き結論が導かれる。即ち、①正常肝切除後には、Mt膜脂質過酸化が、切除量の大きいほど急速にまた高いピーク値をもって亢進するが、その場合でもMt呼吸能は十分な代償的機能亢進状態となり再生も順調に進行する。②硬変肝では、切除前に既に脂質過酸化を受けMt呼吸能も低下しているが、肝切除により一層過酸化脂質値が増加し、これがcriticalpointを越せば再生に障害が及ぶと考えられる。③この場合、硬変肝における肝切除後5日目までの早期のMt呼吸能の亢進が遅延し、しかも抑制されるという形で再生のinitiationに障害が及ぶため、5日以降の再生過程にも影響が及ぶと推察される。

さらに以上の結果を発展させて、硬変肝切除後早期の脂質過酸化を抑制することがエネルギー代謝の改善から円滑な再生につながると推察し、 α -tocopherolを投与したところ、1日目のMt呼吸能の改善を認めている。

以上の研究の中で、thioacetamideによる肝硬変モデルを綿密に評価し、可及的に同一な組織像及び機能を有する肝硬変を対象としている点、さらに、正常と肝硬変では肝切除後の脂質過酸化の絶対値が示す意義に違いがあるとして、肝硬変における術後早期の脂質過酸化の亢進がその後の再生過程に与える影響の大きいことを論述している点で独創的である。これらは硬変肝のエネルギー代謝に関するいくつかの問題を指摘しており、今後の臨床応用の基礎的研究としてその成果は高く評価される。よって本論文は学位授与に値するものと認める。