

Title	CCl4障害肝におけるミトコンドリア脂質の変化
Author(s)	山本, 章
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/28206">http://hdl.handle.net/11094/28206</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	山 本 章 やま もと あきら
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 1 5 号
学位授与の日付	昭 和 35 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 内 科 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	CCl <sub>4</sub> 障害肝におけるミトコンドリア脂質の変化 (主 査) (副 査)
論文審査委員	教 授 木 谷 威 男 教 授 須 田 正 巳 教 授 吉 田 常 雄

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 目 的

組織障害を取扱う場合、殊に肝臓の如く旺盛な幾多の代謝機能を営む組織にあっては個々の代謝過程の阻害の様相が様々であるために障害機作の解釈を複雑化せしめることが多い。しかし組織の特異的な機能はすべてその組織細胞の Integrity の維持に依存し、その基礎となるものはエネルギー代謝であって、組織障害をこのエネルギー代謝の面から論じ得る場合が少くない。かかる立場から呼吸酵素及びエネルギー生成機構の集合体であり、機能と構造が極めて密接な関係をもつミトコンドリアをとり上げ、CCl<sub>4</sub> 肝障害における構造変化を追求した。ことにミトコンドリアは多量の脂質を含有し、その働きは未だ明かではないが、一部呼吸酵素系路上の成分となるものを除いてはおそらく主体をなす酵素蛋白の可動性の骨格をなすと考えられる。したがって CCl<sub>4</sub> 肝障害においては CCl<sub>4</sub> の如き脂質親和性物質によるミトコンドリアの一次的浸襲がおり、他方ミトコンドリア脂質がそれ自体の機能障害によって変化し、更には脂質の変化がミトコンドリア機能を障害するという因果関係が推定される。そこで CCl<sub>4</sub> による急性肝障害並びに反覆持続投与による慢性肝障害を惹起して脂質の変化を検べた。

#### 方 法

雄大黒鼠を用い、急性障害では CCl<sub>4</sub>0.1cc を、慢性障害では25%ゴマ油溶液 0.2cc を週2回8週間にわたって反覆して腹腔内に注射した。断頭屠殺後肝を 0.25M 蔗糖液中で組織粥化し、Hogeboom Schneider の方法に基いてミトコンドリアを分離した。ミトコンドリアの膨潤は 520m $\mu$  における吸光度の減少を分光光度計によって測定し、ミトコンドリア浮遊液の光散乱は 135°/45° 散乱光比を濃度 0 に外挿して 45° における非対称度を求めた。ミトコンドリア脂質はクロロフォルム—メタノール、エタノール—エーテルで抽出し、総脂質、アセタール燐脂質、エステル脂酸、沃素価、エタノールアミン及びセリンを測定した。

磷脂質磷の代謝は  $P^{32}O_4$  100 $\mu$ c 皮下注後 4 時間の肝ミトコンドリア脂質への転入により測定した。

## 結 果

①急性障害肝から分離したミトコンドリアの Phosphate 存在下の膨潤は正常肝ミトコンドリアに比して少く、これが  $Mg^{++}$  によって妨害される割合も少い。Aging による膨潤能の低下は正常肝よりも更に著明である。光散乱では  $45^\circ$  における非対称度は障害肝ミトコンドリアの方が大きく、更に低張の蔗糖液を用いて分離した正常肝ミトコンドリアのそれに相当する。分離のときに EDTA を添加した場合も同様であって、障害肝ミトコンドリアが既に組織内で膨潤していると推定される。②肝 1g から分離されるミトコンドリア分画の脂質、総 N は共に障害肝では減少するが脂質/N は増加する。増加している脂質は中性脂肪である。アスコルビン酸を触媒としてミトコンドリア浮遊液を空气中で振盪した後 TBA 法で測定した脂酸過酸化物は障害肝ミトコンドリアで減少し、リノール酸又はリノレン酸の相対的な減少が認められる。アスコルビン酸無添加で測定した場合障害肝でも特別な過酸化物形成の増加は見られず、 $CCl_4$  障害による抗酸化機能の低下を証明することは出来なかった。③アセタール磷脂質は障害肝ミトコンドリアで増加し、総脂質中でのアセタール/エステル結合比は急性障害肝では正常範囲内にあるが障害を反覆すると著明に増加する。この様な慢性障害肝におけるアセタール磷脂質の増加はアルデヒド酸化能の減退によって一部説明され得る。④  $P^{32}O_4$  のミトコンドリア脂質への転入は  $CCl_4$  注射後 16~24 時間の間では著明に低下する。これは障害肝ミトコンドリア分画の無機磷の増加と有機磷の減少とも一致した。 $CCl_4$  注射後 5 日目には  $P^{32}O_4$  の磷脂質への転入は、酸溶性磷に対する相対的比放能において正常よりも増加する。⑤ 磷脂質のアミノ成分については、急性障害期には エタノールアミン/脂質 P, セリン/脂質 P 共に正常と変りなく、再生期にはエタノールアミン/脂質 P は減少する。

## 総 括

①  $CCl_4$  障害肝のミトコンドリアは正常肝のものに比して明かな光学的性状の変化が認められる。これは障害肝ミトコンドリアが既に組織中で膨潤していることを示すと共にミトコンドリアの構成変化も考えられる。②  $CCl_4$  障害肝ミトコンドリアでは構成脂質にも変化が認められ、殊に中性脂肪とアセタール磷脂質の増加が著明である。急性障害期にはミトコンドリアの有機磷は減少し、無機磷が増加し、ミトコンドリア磷脂質への  $P^{32}O_4$  の転入は減少する。慢性障害肝ではアルデヒド酸化能が減退し、アセタール/エステル結合比の増加と一致する。以上の変化はすべて酸化能及び磷酸化能の減退によって説明されるもので、ミトコンドリア自体の機能減退を反映すると考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

### 目 的

肝障害が酸化能及び磷酸化能即ち細胞のエネルギー利用能の障害を基礎として発生するという立場に立って、肝障害の発生機転を追求するために、最も一般的に用いられ且つ親脂性の代表的肝臓毒である四塩化炭素による実験的肝障害を惹起せしめて肝ミトコンドリアの構成脂質の変化を検討した。ミトコンドリアにおいて脂質は重要な構成要素の一つであり、脂質のアミノ成分の比率や不飽和脂肪酸の含量等種々の点で極めて特徴的な組成をもつことが知られている。これらの特徴はそのままミトコンドリア機能と密接

な因果関係をもつことが推測されるのであって、ミトコンドリアの構造と機能において脂質の果す役割は極めて重要視されねばならない。

#### 実験方法並びに実験成績

① 四塩化炭素 0.1cc の腹腔内注射によって雄大黒鼠に肝障害を惹起せしめ、肝ミトコンドリアを分離し、等張蔗糖溶液中で燐酸イオンの存在下で膨潤現象を観察、更にミトコンドリア浮遊液の光散乱を測定し、正常肝ミトコンドリアと比較した。燐酸イオンやコハク酸の存在下における膨潤は障害肝ミトコンドリアでは正常肝のそれよりも程度が少く、 $Mg^{++}$  や ATP の膨潤防止効果も正常に比して劣っている。障害肝ミトコンドリアは Aging による膨潤能の減退が著明である。ATP による膨潤回復や防止効果から見ると、障害肝ミトコンドリアは正常に比して弾力性が減退している様に思われる。このような変化は障害肝ミトコンドリアが既に膨潤変化をおこしているかあるいは膨潤に関与せぬ dead volume が増加していることを示すと考えてよい。ミトコンドリア浮遊液の光散乱の  $45^\circ$  における非対称度は障害肝では常に正常肝の場合よりも大であって、更に低張のメデイウムで分離、測定した正常肝ミトコンドリアの値に匹敵するのであって、ミトコンドリアの大きさ及び光の屈折、干渉等の性状の変化を示している。

② 上の様なミトコンドリア膨潤現象の変化は障害肝ミトコンドリア分画における性質の総窒素に対する相対的増量とも関係する様である。この場合増加する脂質は不飽和度の低い中性脂肪であることが、沃素価及び過酸化形成の減少によって明らかにし得た。

一方  $P^{32}O_4$  を用いて燐脂質の合成面から見た交替率を測定すると、急性障害の初期にその減退が認められる。

③ ミトコンドリア分画において元来少ない脂質アルデヒド（アセタール燐脂質）が障害肝殊に慢性障害によって増量する。ラウリルアルデヒドを基質として DPN によるアルデヒド脱水素酵素活性を測定すると慢性障害肝で著明に低下しているのを認めたが、これは脂質アルデヒド増加の一面を証明しようと考えられる。

④ 脂質エタノールアミン/P, セリン/P 比は共に急性障害期においては変化なく、回復期において減少する。

⑤ 以上の脂質の変化は酸化能、燐酸能というミトコンドリアそれ自体の変化を反映するものであってしかも更に転じて、膨潤能という肝ミトコンドリアの極めて特異的な機能に影響するものと解釈される。

組織障害を論ずるに障して、個々の代謝過程の障害を検討することは屢々行われ来た所である。しかし組織細胞の特異な機能の維持はその構造に負う所が大で、構造の崩壊はしばしば、個々の成分酵素の変化なしに細胞機能に重大な障害をあたえる。組織呼吸の基本をなすミトコンドリアにおいて、この関係は最も重要であり、本教室においても従来検討され来た所である。本研究は構造維持に大きな役割を果す脂質の変化に着目した所に意義があり、他の多くの肝障害の場合においてミトコンドリアにおけるエネルギー利用の障害が脂質の変化を通じてそれ自体の機能低下に帰結する因果関係が示唆され、かかる機転が、障害殊に慢性障害の発生に関与するという肝障害発生に関する基礎的知見の一端を解明したものであり、この方面の研究に寄与する所大なるものとする。