

Title	肝線維化と基質多糖類代謝に関する研究
Author(s)	志水, 洋二
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28224
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 28 】

氏名・(本籍)	志	水	洋	二
	し	みず	よう	じ
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6	4	号
学位授与の日付	昭和 34 年 10 月 23 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	肝線維化と基質多糖類代謝に関する研究			
	(主 査)		(副 査)	
論文審査委員	教授 吉田	常雄	教授 宮地	徹 教授 須田 正巳

論 文 内 容 の 要 旨

目 的

近年、組織線維化に結合質基質中の可溶性コラーゲン並びに酸性多糖類が主要な役割を演ずることが強調されている。一方肝硬変症は肝結合織成分の異常増殖をその主要病変とするものであるが、かかる肝線維化過程における結合織基質の代謝に関しては僅かに Balasubrahmanyam の組織化学的研究が報告されているに過ぎない、ここに私は肝線維化と基質多糖類との関係を追求し、もって肝硬症の病態生理を解明する目的で、肝結合織諸成分の化学的測定法に関して検討を行い、これを用いて急性並びに慢性肝障害動物および実験的肝硬変動物について肝結合織成分を測定し、その動向を検索した。

方 法

実験動物には家兎および Wistar 系雄性白鼠を使用、肝障害並びに肝硬変発生には CCL₄ 注射および吸入を行った。グルクロン酸定量には Fishman 変法並びに Dische 法、ヘキソサミン、ヒドロキシプロリン、β-グルクロニダーゼ、硫酸定量にはそれぞれ Ellson Morgan 変法、Neuman 及び Logan 法 Talalay 及び Fishman 法、Fiske 法を用いた。又肝ムコ多糖類抽出は Partridge 法、酸性多糖類及びその構成 mono- 及び disaccharide 定性には Kerby 及び Fischer のペーパークロマトグラフィー法を用いた。

結 果

私の用いた Herkness 変法によっても肝総コラーゲン測定値は原法とほぼ同値を示し、しかも実験誤差はむしろ少なかった。Herrmann 法による健常白鼠の肝アルカリ不溶性コラーゲンは湿重当り平均 0.132% で、総コラーゲンと明らかな平行関係が認められた。酸性多糖類中グルクロン酸定量につき Fishman 法、Dische 法及びこれらの変法では何れも一定の成績が得られなかった。これに反し多糖類中ヘキソキミン定量は恒に理論値の 80% 以上を示し、比較的安定した成績が得られた。健常白鼠の肝ムコ多糖類は平均湿

重 g 当り $65.6\mu g$ ヘキサミン値で、コンドロイチン硫酸回収試験の成績は平均 72.5% であった。ペーパークロマトグラフィーによりヘパリン及びコンドロイチン硫酸並びにグルコース、グルクロン酸、ヘキサミン、コンドロシンがそれぞれ認められた。Boas の組織ヘキサミン測定法は肝ヘキサミン定量法として十分満足すべきものがあつた。健常白鼠の肝ヘキサミンは湿重 $100 g$ 当り平均 $63.0mg$ で約 79% がグルコサミン、健常家兎ではそれぞれ平均 $51.4mg$ 及び 81% であつた。

急性肝障害白鼠24時間後、肝結合織成分は共に減少するが、48時間後コラーゲンは未だ低値を示すに拘らず、ヘキサミンはやや高値を示した。1週間後ヘキサミン、総コラーゲンはほぼ健常値に恢復したが、アルカリ可溶性コラーゲンは増加した。グルクロノラクトン $200mg/1 kg$ 又はコンドロイチン硫酸 $100mg/1kg$ 併用投与によりこれ等の初期減少が共に抑制された。亜急性肝障害白鼠の肝ムコ多糖類は減少、 β -グルクロニダーゼ活性は低下したが、コンドロイチン硫酸併用投与群では何れも低下軽度であつた。尚コンドロイチン硫酸単独投与でも両者共やや低下した。慢性肝障害白鼠の肝ヘキサミン及びコラーゲンは共にやや増加したが、建常値と大差なかつた。一方家兎では肝コラーゲン著増し、同時にヘキサミンも増加した。 $Na_2S^{35}O_4$ 投与後の肝及び血中酸加水分解性硫酸の比放射能測定により慢性肝障害時には肝における無機硫酸の turn over rate が低下していると考えられた。実験的肝硬変白鼠の肝総コラーゲンは既に2週間後より増加し、組織学的線維化所見とはほぼ平行して増加した。殊に6~8週後からその増加が著明となり、肝ヘキサミン、アルカリ可溶性コラーゲンはこの時期に最高値を示した。グルクロン酸又はコンドロイチン硫酸連続併用投与群10~12週後の肝コラーゲンは対照群に比し明らかに低値を示し、殊にグルクロン酸群に著明であつた。

総 括

1. 結合織諸成分化学的測定法に改良を加え、これを用いて肝結合織成分を定量した。
2. 急性並びに慢性肝障害動物における成績より肝障害時には酸性多糖類、殊にコンドロイチン硫酸様物質の代謝異常が存在すること並びに肝コラーゲン線維増殖時にはこれに先立ちヘキサミン並びに可溶性コラーゲンの増加することを認めた。
3. 実験的肝硬変動物において、肝コラーゲン定量が線維化進行の指標たり得ることを認め、更に肝線維化より肝硬変への移行期にヘキサミン並びに可溶性コラーゲンが最高値を示すことにより、両者が肝硬変変化に密接な関係を有すると考えられた。
4. 肝障害時における酸性多糖類代謝異常の是正により肝線維化をある程度抑制し得るという成績を得た。

論文の審査内容の要旨

近年 Dunphy 等により組織線維化に結合質基質中の可溶性コラーゲン並びに酸性多糖類が主要な役割を演ずることが強調されている。一方肝硬変症は肝結合織成分の異常増殖をその主要病変とするが、かかる肝線維化過程における結合織基質の代謝異常に関する報告は殆どこれを見ない。

著者は肝結合織諸成分の化学的定量法を検討、改良を加え、これを用いて健常並びに諸種肝障害動物の肝結合織成分を測定し、肝線維化と基質多糖類代謝との関係について検索した。

Herkness 変法による健常白鼠の肝総コラゲン測定値は原法とほぼ同値を示し、しかも実験誤差は少なかった。Hermann 法による肝不溶性コラゲンは平均 0.132% で、総コラゲンと明らかな平行関係が認められた。酸性多糖類の測定にはグルクロン酸定量法では一定の成績が認められず、反之 Elson-Morgan 変法による多糖類中ヘキソサミン定量では比較的安定した成績が認められた。健常白鼠の肝ムコ多糖類は平均 $65.6 \mu g/g$ ヘキソサミン値で、コンドロイチン硫酸回収試験の成績は 72.5% であった。肝ムコ多糖類分画中にはペーパークロマトグラフィーによりヘパリン及びコンドロイチン硫酸様物質並びにグルコース、グルクロン酸、ヘキソサミン及びコンドロシンがそれぞれ認められた。Boas の組織ヘキソサミン測定法は肝ヘキソサミン定量法として十分満足すべき方法で、健常白鼠の肝ヘキソサミンは平均 $63.0 \text{mg}/100 g$ 、家兎では $51.4 \text{mg}/100 g$ 、ヘキソサミン中グルコサミンはそれぞれ 79% 及び 81% であった。

急性肝障害白鼠 24 時間後、肝結合織成分は共に減少したが、48 時間後コラゲンは未だ低値を示すに拘らず、ヘキソサミンは既に旧値に復し、1 週間後肝総コラゲン回復時には可溶性コラゲンが増加した。グルクロノラクトン $200 \text{mg}/\text{kg}$ 又はコンドロイチン硫酸 $100 \text{mg}/\text{kg}$ 併用投与により、これ等の初期減少が何れも抑制された。慢性肝障害白鼠の肝結合織諸成分には著明な変動が見られなかったが、家兎ではコラゲンの著明な増加と共にヘキソサミンも増加した。 $\text{Na}_2\text{S}^{35}\text{S}_4$ 投与後の肝酸加水分解性硫酸の比放射能経時的測定により、慢性肝障害白鼠では肝コンドロイチン硫酸の turnover rate が低下していると考えられた。実験的肝硬変白鼠の肝総コラゲンは組織学的線維化所見とほぼ平行して増加した。殊に肝硬変可逆期より不可逆期への移行期、6~8 週間後にはその増加著明となり同時に可溶性コラゲン並びにヘキソサミンが peak を示した。グルクロン酸又はコンドロイチン硫酸連続投与群 10~12 週後の肝コラゲンは対照群に比し明らかに低値を示した。

以上要するに著者は従来の結合織成分定量法を検討し、十分満足すべき肝結合織定量法を考案した。更にこの方法を用いて、肝線維化進行の際には結合織基質多糖類の代謝異常が先行すること、並びにかかる多糖類代謝異常の是正により線維化を或る程度抑制し得ることを明らかにしたもので、肝硬変の病態生理解明とその治療法確立に資する所大であると思われる。