

Title	肝線維化時の結合織成分代謝異常に関する研究
Author(s)	児島, 淳之助
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28797
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	児 島 淳之助 と じま じゅんのすけ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 6 1 8 号
学位授与の日付	昭 和 40 年 2 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	肝線維化時の結合織成分代謝異常に関する研究
	(主査) (副査)
論文審査委員	教授 吉田 常雄 教授 山村 雄一 教授 宮地 徹

論 文 内 容 の 要 旨

〔日 的〕

肝硬変症における肝間質結合織の異常増殖がいかなる機転によって起るかは未だ明らかでない。近年肝結合織の異常増殖に際し、肝及び尿中酸性ムコ多糖体 (AMPS) の異常をきたし、これが肝線維化進行に関連あることが Popper 及び教室の和田、志水によって指摘された。しかし AMPS 代謝異常の詳細は尚明らかでなく、又これらの報告はいずれも *in vivo* で行なわれているため肝以外の結合織の影響を除外していない。そこで私は肝線維化時の AMPS 代謝異常を動的に検討するため S^{35} を用い肝及び尿中 AMPS の動向を観察、一方肝間質結合織線維芽細胞を組織培養して障害肝における肝間質結合織異常を追究し、肝硬変発症に於ける線維芽細胞の役割を明らかにせんとした。

〔実験方法〕

実験動物は体重 150 g 前後の Wistar 系雄性ラットを使用し、 CCl_4 週 2 回宛吸入法にて慢性肝障害を惹起せしめた。

尿中 AMPS 及び総硫酸の比放射能測定にはラットを 1 群 4 匹宛とし、 $Na_2S^{35}O_4$ 50 μc を腹腔内注射後 14 日間に亘り 24 時間尿を採取して行なった。即ち Di Ferrante 法に準じ cetyl-trimethyl-ammonium-bromide を用い AMPS を沈澱せしめて、透析後カルバゾール法によりグルクロン酸量を、ガスフローカウンターで放射能を測定し、AMPS の比放射能を算出した。又尿中総硫酸は Häkkinen 法で測定、稀釈尿を用い放射能を直接測定し総硫酸の比放射能を算出した。副腎皮質ホルモン投与群はプレドニソロン体重 100 g 当り 1 日 0.06 mg を S^{35} 注射 24 時間後より 14 日間連日経口投与し、尿中 AMPS の比放射能を追求した。ラットの肝総ヘキソサミン量は、Blix 法で測定した。又ラット肝臓の S^{35} uptake は $Na_2S^{35}O_4$ を体重 g 当り 1 μc 腹腔内注射し、1, 3 及び 24 時間後 Autoradiography 法により検討した。

健常及び肝硬変ラット並びに健常人及び肝硬変患者の肝線維芽細胞の組織培養は20%人血清加 TC 199 培養液を用い廻転培養により行なった。肝線維芽細胞培養液中の N-acetyl- β -glucosaminidase (β -gl) 活性はWalker 法, Hydroxyproline (HOP) 量は加水分解後バームチット及びノリットAを用いて脱色し Stegemann 法により測定した。又培養液を流水中で48時間透析後非透析性 HOP 量を測定した。線維芽細胞の S^{35} uptake は $Na_2S^{35}O_4$ を培養液 1 ml 当り 2 μ c 加え Autoradiography 法にて観察した。

〔実験成績〕

1 肝臓の S^{35} uptake

健常ラット肝細胞の S^{35} uptake は $Na_2S^{35}O_4$ 投与24時間後には極めて僅かであったが、肝硬変ラットでは肝間質結合織内に多量認められた。

2 尿中総硫酸及び AMPS の比放射能

- a) 総硫酸の比放射能は急速に、AMPS のそれは徐々に減少した。最少二乗法にて半減期を算定すると、前者は2.3日、後者は3.6日であった。
- b) CCl_4 慢性肝障害ラットの尿中 AMPS 比放射能より半減期を算定すると、肝障害1ヶ月群では3.4日、2ヶ月群では2.8日、3ヶ月群では2.3日と肝障害の進行に伴い短縮した。
- c) CCl_4 慢性肝障害3ヶ月群にプレドニソロンを投与するに半減期は3.5日で、非投与対照群2.3日に比し延長し、健常群とほぼ同様となった。

3 尿中 AMPS 及び肝ヘキサミン

CCl_4 慢性肝障害1, 2及び3ヶ月ラットの尿中総及び非透析性 AMPS 排泄量並びに肝ヘキサミン量はいずれも健常群に比し高値を示したが、プレドニソロン投与により低下した。

4 ラット及び肝生検によって得た成人の肝臓線維芽細胞培養法を検討し、培養成功率は約80%であった。

5 線維芽細胞培養液中に溶性コラゲンが存在する事をコラゲナーゼを用いて証明した。

6 肝硬変患者及びラットの肝臓線維芽細胞の干涉異相差顕微鏡像では健常肝線維芽細胞に比し、胞体内顆粒は多く、かつその大きさは大であった。

7 肝線維芽細胞培養液中の β -gl 活性

- a) 実験的慢性肝障害ラットでは慢性肝炎が最も高く、肝硬変では健常例に比しやや高値を示した。
- b) 慢性肝障害患者では慢性肝炎患者は健常人に比し高値で、肝硬変患者では不変であった。

8 肝線維芽細胞培養液中の HOP 量

- a) 肝硬変ラットから得た材料を使用したときの総 HOP 量は健常例に比し高値で、非透析性 HOP 量は両者の間に差はなかった。
- b) 肝硬変患者の材料では非透析性 HOP 量は健常人のそれに比し低値で、慢性肝炎患者では差はなかった。

9 肝線維芽細胞の S^{35} uptake

人及びラット共に慢性肝炎で最も多く、肝硬変がこれに次ぎ、健常例では少なかった。

〔総括〕

実験的慢性肝障害ラットの肝間質結合織ではAMPS合成が昂進し、肝線維化の進展に伴ってAMPSのturn over rateが上昇する事を明らかにし、又この際ステロイドホルモン投与はかかるAMPS代謝異常の是正に有用な事を認めた。

CCl₄慢性肝障害ラット及び慢性肝炎患者の肝臓線維芽細胞を組織培養し、肝線維化時肝線維芽細胞のAMPS代謝、 β -gl活性及びコラゲン産生に異常あることを認め、これが肝線維化病変の進行に関連あることを推測せしめる成績を得た。

論文の審査結果の要旨

肝硬変症にみられる肝臓間質結合織の著しい増殖が如何なる機転によっておこるかについては、古くより数多くの研究が行なわれているが、現在尚その本態は明らかでない。

著者は結合織線維の産生に、結合織基質中の酸性ムコ多糖体が重要な関連ある事実に着目し、肝線維化過程に於ける酸性ムコ多糖体代謝異常について検討した。即ち実験的慢性肝障害ラットにNa₂S³⁵O₄を投与後、肝臓の異常増殖間質結合織中に多量のS³⁵ uptakeを認め、又Na₂S³⁵O₄投与後における尿中酸性ムコ多糖体の比放射能を経時的に測定し、肝線維化進行の際は肝臓間質結合織における酸性ムコ多糖体の産生増加、並びにそのturn over rateの上昇を示唆する成績をえた。又この際ステロイドホルモン投与によりかかる酸性ムコ多糖体代謝異常の是正をみた。著者は更に肝臓より線維芽細胞の組織培養を行ない、肝線維化に際して見られる肝臓間質結合織の異常を究明した。即ち慢性肝炎及び肝硬変症患者、並びに実験的慢性肝障害ラットの肝臓より線維芽細胞を組織培養し、培養液中のN-Acetyl- β -Glucosaminidase活性及びコラゲン量が健常肝の線維芽細胞と異なることがあることを明らかにした。更にNa₂S³⁵O₄を培養液に加え、慢性障害肝より培養した線維芽細胞では、S³⁵ uptakeも異常に増加することを認めた。

肝硬変症発生過程における肝結合織基質酸性ムコ多糖体代謝異常をS³⁵硫酸ソーダを用いて追求すると共に組織培養法によりこの際の肝臓線維芽細胞異常について詳細に追求した本研究は、本症の発生機序解明に寄与するところ大であると考えらる。