



Title	Phenyl Acetate Esterase活性測定の肝機能検査への応用
Author(s)	高橋, 洋一
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29133
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	高 橋 洋 一
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 957 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 4 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	Phenyl Acetate Esterase 活性測定の肝機能検査への応用
論文審査委員	(主査) 教授 山村 雄一 (副査) 教授 西川 光夫 教授 須田 正巳

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

従来エステラーゼは Augustinsson により, A, B, C, に分類されている。この分類において, Phenyl acetate esterase (以下 PhE と略す) は A エステラーゼ (arylesterase) に属し, その生理的, 臨床的意義についてはほとんど知られていない。著者はヒト, マウスの肝および血清中の本酵素活性の測定法を確立し, マウス肝障害時の肝における本酵素比活性値と組織学的所見との相関, 動物実験における肝庇護剤の効果判定の一指標としての本酵素の動態, および臨床的応用, 就中, 肝硬変症における血清中本酵素活性値などにつき検討を行なったので以下報告する。

〔方法ならびに成績〕

1) PhE 活性の測定法: 基質としては合成した phenyl acetate (等モルの phenol と acetyl chloride を混じ減圧蒸溜後, 赤外スペクトルにて確認) を磷酸緩衝液 pH 7.4, M/15 に溶解して用い, 酵素材料と反応せしめ, 生ずる醋酸による pH の低下を automatic titrator TTT 1c Copenhagen を用い苛性ソーダで滴定, 反応終了後と反応前における滴定量の差を以って PhE 活性値 (μ Eq NaOH) とした。

2) 実験的肝障害時 PhE 活性の時間的推移

1 群 6 匹の ddO マウスに四塩化炭素 1.0 ml/kg, 蟻酸アリル 0.1 ml/kg, エチオナマイド 0.25 g/kg をそれぞれ腹腔内 1 回注射し, 各マウス群の肝 PhE 比活性値の時間的推移をみたところ, 無処置群の PhE 比活性値は $25.7 \pm 1.0 \mu$ Eq NaOH/mg prot, 四塩化炭素投与群には注射 24 時間後で比活性値は半減, 48 時間で最低値を示し組織学的にも中心性壊死の程度はもっとも著しい。以後 PhE 比活性値は徐々に回復し, 2 週間後には元の 80% 程度の回復, 3 週間後には $\approx 100\%$ 回復した。蟻酸アリル投与群では, 24 時間後四塩化炭素群と同程度の低下をみたが, 以後の回復は, より緩慢であり約 4 週

間後に元の比活性値に復した。エチオナマイド投与群では、比活性値の変動は有意でなく、組織学的にも著変は認められなかった。なお酵素材料の蛋白定量は Folin-Lowry 法に準じ行なった。

3) 肝細胞分画の PhE 比活性値と肝障害

Schneider 法に基づき分画し、その各分画の比活性値についてみると、無処置マウスではマイクロゾーム分画がもっとも高く、 $48.5 \mu \text{Eq NaOH/mg prot}$ 、ついでマイトコンドリア分画にあり上清ではもっとも低値を示した。肝障害時（前記量を腹腔内 1 回注射後 24 時間）の各肝細胞分画について検討した結果四塩化炭素投与マウスではマイクロゾーム及びマイトコンドリア分画の著しい低下を認めた。蟻酸アリル投与マウスではマイクロゾーム分画の低下は認めたが、マイトコンドリア及び上清には著変は認められなかった。又エチオナマイド投与マウスでは各分画とも活性値の有意の変化は認めなかった。

4) マウス肝及び血清 PhE 活性の電気泳動パターン：肝細胞分画及び血清について澱粉ブロック電気泳動（ベロナール-ベロナールソーダー緩衝液 pH 8.6 $\mu=0.05$, 300~350 V, 10 mA 18 時間）を施行した。マイクロゾーム、マイトコンドリア両分画とも血清アルブミンに一致せる部位及び原点に計 2 本の比活性ピークを認めた。殊にマイクロゾームのアルブミン位のピークは著しく PhE 活性のほとんどがこの部位に局在するものと考えられる。血清の場合アルブミンないしプレアルブミン位に活性ピークを認めたが、原点にはピークは認めなかった。肝障害時マイクロゾームのピークの著減、マイトコンドリアのピークの消失、血清のピークの著減が認められた。

5) 各種染剤投与の四塩化炭素障害肝 PhE 比活性値に及ぼす影響：肝庇護剤の効果判定の一指標として PhE 活性を判定せんと試みた。1 群 10 匹の ddO マウスに四塩化炭素（前記量）を腹腔内 1 回注射後、ベタイン構造を有する物質及び SH 化合物を選び注射（当日及び翌日計 2 回）し、48 時間後の肝 PhE 比活性値を比較したところ、グルタチオン投与群において四塩化炭素投与による活性低下を抑制することを認めた。

6) ヒト血清 PhE 活性値：動物実験より血清 PhE 活性は肝 PhE 活性を反映すると推論され、本院入院、外来患者総数 380 名を無作為的に抽出し、血清 PhE 活性につき検討した。健常者の活性値は $69.8 \pm 15.8 \mu \text{Eq NaOH}$ に対し疾病別血清 PhE 活性平均値のうち 0.1% の危険率で有意差が認められたものは肝硬変群であり、 $35.1 \sim \pm 8.8 \mu \text{Eq NaOH}$ また $40 \mu \text{Eq NaOH}$ 以下の低値を示したものは総数 19 例あり、このうち肝硬変と判明したものは 7 例を占め（肝硬変総数 10 例のうち 70%）他の 3 例もすべて 50 以下の低値を示した。これに反し肝炎総数 27 例のうち低値を示したもの僅かに 2 例にあり、1 例は激症肝炎で死亡し、他の 1 例は胆汁うつ滯性肝炎であることが生検で判明した。血清中 PhE 活性値と現行肝機能検査との相関々係につき検討したところ総蛋白量とは有意にしかも高度に正の相関が認められた。黄疸指数、コバルト値、クンケル値、アルカリファースターゼ活性値とは、それぞれ有意に負の相関が認められたが、その程度は比較的低かった。GPT 活性値とは相関関係は認められなかった。血清 PhE 活性が低値を示し、生検で肝硬変と診断されたものの中には現行の肝機能検査で異常を認められなかったものもあった。

〔総括〕

血清 PhE 活性測定は肝硬変症の診断並びに肝炎との鑑別診断に有意義であると考えられる。

論文の審査結果の要旨

本研究において著者は automatic titrator を用いるマウス肝 phenyl acetate esterase 活性測定の方法を確立するとともに本酵素は電気泳動的に血清アルブミンと移動度を一にし、主としてマイクロゾーム中に含まれること、四塩化炭素、蟻酸アリルなどにより肝障害を起した場合肝の本酵素比活性値は低下し、ある種薬剤の投与により本酵素比活性の低下を阻止しうることを認め、肝臓薬の評価の一判定法たらしめようとしている。一方臨床例につき血清中の本酵素活性を測定し、とくに肝硬変の際に血清中本酵素活性が著明に低下することを認め本酵素活性測定が肝機能検査法の一つとして有用であることを示した。

本法は実験的にも、臨床的にも肝障害の程度を知るに有用な方法であり、優れた研究成果であると認める。