

Title	ビタミンB6欠乏の肝再生におよぼす影響
Author(s)	高見, 元敏
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29156
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	高 見 元 敞 たか みもと ひさ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1066 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 1 月 25 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 外 科 系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	ビタミン B₆ 欠乏の肝再生におよぼす影響
論文審査委員	(主査) 教 授 芝 茂 (副査) 教 授 坂本 幸哉 教 授 山野 俊雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

ビタミン B₆ の欠乏が、腫瘍の発育を抑制することは、これまで多くの実験により知られているが、その機序に関しては不明の点が多い。

私は、ビタミン B₆ と細胞増殖との関係を明らかにする目的で、ラットの部分的肝切除後の肝再生におよぼすビタミン B₆ 欠乏の影響を検討し、更に、核酸合成に必要な C₁-Unit の形成に重要な役割を演じていると考えられる Serine hydroxymethylase が、ビタミン B₆ を補酵素としていることに注目して以下の実験を行なった。

〔方 法〕

動物：雄の幼若ウイスター系ラットを用いた。

肝部分切除：Higgins and Anderson の方法にしたがい肝の約67%を切除した。

肝ピリドキサルリン酸 (PLP) の定量：Apotryptophanase を用いる和田等の方法に従った。

核酸の分別・定量：Schmidt and Thannhauser の方法で DNA 分画と RNA 分画を分け、DNA は Burton の方法、RNA は Meibbaum の方法によって測定した。

蛋白の定量：Lowry らの方法で測定した。

酵素材料：0.25 M Sucrose により20%肝ホモジエネートを作り、上清分画とミトコンドリア分画に分けてその各々を酵素とした。

肝内遊離 Serine 量の測定：肝内の遊離アミノ酸を Sanger の方法により DNP 化したのち、Levy の 2次元ペーパークロマトグラフィーを用いて、DNP-Serine を分離定量した。

〔成 績〕

(1) ラットをビタミン B₆ 欠乏食で長期間飼育すると、対照にくらべて成長が遅れ、肝内 PLP

量も10日目で約70%, 60日目には約30%にまで低下する。しかし、これ以上に低下させることは困難であり、それ以上長期間欠乏食で飼育すると死亡するものが多くみられた。

(2) B₆ 欠乏食で60日間飼育したラットに肝部分切除を行ない、その再生の過程を、術後2週間にわたって調べたところ、そのいずれの時期にも肝の再生の比率は対照と差がなく、同時に測定した単位肝重量当りの蛋白量, DNA 量, RNA 量にも変化は全くみられなかった。

(3) ビタミン B₆ 欠乏を一層つよく引き起すために、B₆ 欠乏食で飼育したラットに DL-Penicillamine を投与し、肝内 PLP が約20%に低下した場合の肝の再生状態を調べたが、再生率, 単位肝重量当りの蛋白量, DNA 量, RNA 量は対照との間に差はみられなかった。

(4) 肝切除後の DNA 合成の速度に違いがあるかどうかをみるため、肝切除後18時間目のラットに ³H-Thymidine を注射し、肝 DNA へのとりこみを調べたが、これにも差はみられなかった。

(5) ビタミン B₆ 欠乏が B₆ 酵素にいかなる影響を与えているかを知るため Serine hydroxymethylase, Serine dehydratase, Homoserine dehydratase, Kynureninase, Kynurenine transaminase, Tyrosine transaminase, Glutamic oxaloacetic transaminase, Glutamic pyruvic transaminase, Phosphorylase 等の B₆ 酵素の活性を測定した。Serine hydroxymethylase を除く全ての酵素は活性が低下し、中でも Homoserine dehydratase, Serine dehydratase の活性低下は極めて著しかった。これに反して、Serine hydroxymethylase の活性は殆んど変化を示さなかった。

(6) 以上の実験結果から、Glucose よりの C₁-Unit の形成に深い関係があると考えられている Serine hydroxymethylase は、B₆ 欠乏に対してつよい抵抗性を示し、そのため C₁-Unit の形成にはあまり影響が認められないものと考えられる。この点を確かめるために、Serine-3-¹⁴C の再生肝 DNA へのとりこみを調べた。

肝切除後18時間目のラットに Serine-3-¹⁴C を注射し、4時間後にそのとりこみをみると、B₆ 欠乏ラットでは、対照の約50%のとりこみしか示さなかった。一方、この場合の肝内遊離 Serine 量を測定してみると、それは対照の約1.4倍に増加していた。この Serine pool の増大は Serine dehydratase の高度の活性低下によるものと思われる。

従って B₆ 欠乏ラットにおける Serine-3-¹⁴C のとりこみの減少は、Serine pool の増大により、投与された Serine-3-¹⁴C が稀釈されたためと考えられ、実質的には Serine よりの C₁-Unit 形成に対して、B₆ 欠乏は直接的な影響を与えないものと考えられる。

〔総括〕

ビタミン B₆ 欠乏食、およびそれに Penicillamine を併用して、肝内 PLP 含量を20—30%に減少させ、そのような極度の B₆ 欠乏が肝の再生に対していかなる影響を与えるかを、肝重量, 蛋白量, DNA および RNA 量を比較することによって調べたが、対照との間に全く差がみられなかった。

B₆ 欠乏ラットの肝内 B₆ 酵素はいずれも著しく減少していたが、それにもかかわらず、Serine hydroxymethylase の活性低下は殆んど認められなかった。

又、Serine-3-¹⁴C の DNA へのとりこみにも B₆ 欠乏ラットと対照の間に本質的な差はみられなかった。

これらの実験結果から、DNA, RNA の合成に必要な C₁-Unit は、B₆ 欠乏時にも十分に供給され

ており、肝の再生が抑えられなかったのもこのためと考えられる。

B₆ 欠乏による実験腫瘍の発育抑制の作用機序は、なお不明である。腫瘍において、果して Serine hydroxymethylase に変化が起っているかどうかは、まだ解明されておらず、今後は種々の腫瘍を用いて研究をすすめてゆきたい。

論文の審査結果の要旨

ビタミン B₆ 欠乏が、ある種の実験腫瘍の発育を抑制することは以前から知られているが、その作用機序に関してはいまだ解明されていない。

本研究は、細胞増殖の極めて盛んなラットの再生肝を用いて、ビタミン B₆ 欠乏の細胞増殖におよぼす影響を検討するとともに、核酸合成に必要な C₁-Unit の供給に重要な役割を演じている Serine hydroxymethylase がビタミン B₆ を補酵素としていることに注目してその活性の変化をしらべたものである。

著者は、B₆ 欠乏食により、あるいは、それに B₆ 拮抗剤である DL-ペニンラミンを併用することにより、ラットに高度の B₆ 欠乏を起させた場合でも肝の再生状態は対照と変わらず、³H-チミジンのとりこみにも差がないことを見出した。そして、その際の各種 B₆ 酵素の活性を測定した結果、ほとんどすべての B₆ 酵素が著しい活性の低下を示しているにもかかわらず、Serine hydroxymethylase のみは約92%の活性を残していることを明らかにした。なお、Serine-3-¹⁴C よりの再生肝 DNA への C₁-Unit のとりこみを調べた実験でも、B₆ 欠乏と対照との間に本質的な差は認められなかった。

すなわち、本研究では、まず、高度の B₆ 欠乏時にも肝の再生が抑制されないことを見出し、その原因を解明しようとして行なった実験の中で、Serine hydroxymethylase が B₆ 欠乏に対し極めて抵抗性のつよい酵素であることを証明した。そしてこれを B₆ 欠乏時に肝再生が抑制されない原因の一つであるとしているが、これは、従来行なわれたビタミン B₆ 欠乏と腫瘍発育との関係、また今後行なわれるこの方面での核酸合成の研究に一つの重要な手がかりを与えるものとして、極めて価値あるものとする。