

Title	肝障害による肝N-Acetyl- β -Glucosaminidaseの変動と血清本酵素活性との関連に関する研究
Author(s)	岩堀, 南郎
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29906
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	いわ 岩	ほり 堀	なみ 南	お 郎
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	1891	号	
学位授与の日付	昭和45年2月20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	肝障害による肝 N-Acetyl- β -Glucosaminidase の変動と 血清本酵素活性との関連に関する研究			
論文審査委員	(主査) 教授 阿部 裕 (副査) 教授 山村 雄一 教授 坂本 幸哉			

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

N-Acetyl- β -Glucosaminidase (β -GL) は酸性ムコ多糖体代謝に関与する酵素で、肝臓では高い活性がみられ、肝障害では血清本酵素活性の上昇が知られている。しかし障害肝における肝 β -GL の変化や血清本酵素活性の上昇機序の詳細に関してはいまだ明らかでない。そこで実験的肝障害ラットについて、諸条件下における肝細胞内 β -GL 分布の変動を検討するとともに、血清本酵素活性との関連を明らかにせんとした。

〔方法及び成績〕

A. 実験材料及び方法

- 1) 体重250g前後の Sprague-Dawley 系雄性ラットの肝及び血清を用い酵素活性を測定した。
- 2) 急性肝障害実験にはラット体重100g当り、0.5mlの25% (v/v) 四塩化炭素オリーブ油溶液をゾンデを用い胃内に注入し、24時間後測定に供した。又、慢性肝障害は Morrione 法に準じ四塩化炭素の吸入を週2回宛1~4カ月間行った。
- 3) 肝葉結紮実験は de Duve らの方法に準じ肝左葉基部を結紮し30分、1、3、6、12、及び24時間後の結紮部及び非結紮部肝葉を実験に用いた。
- 4) グルココルチコイド投与はハイドロコーチゾンラット体重100g当り1日5mg宛毎日5日間腹腔内に注入した。
- 5) 副腎剔除実験はエーテル麻酔下で背部より両側副腎を剔出し、術後24及び48時間のラットを用いた。
- 6) 再生肝実験は Higgins-Anderson 法により肝部分切除を行ない24及び48時間後の再生肝

を用いた。

- 7) ラットは頸動脈より脱血屠殺後肝を冷 0.25M 蔗糖液で灌流し摘出した。次いで摘出肝の一定量に冷 0.25M 蔗糖液を加え10%肝ホモジネートとし de Duve らの方法で分画遠沈を行なった。尚血液は 4°C 1時間放置後遠沈し、血清を測定に供した。
- 8) β -GL 活性測定は Walker らの方法に準じて行ない、血清の活性は〔遊離した P-Nitrophenol (mg)/dl/30分〕で、肝の比活性は〔遊離した P-Nitrophenol (μ g)/ 蛋白 (mg)/30分〕で、全活性は〔遊離した P-Nitrophenol (mg)/ 肝湿重量(g)/30分〕で表わした。尚上清分画及び顆粒分画の比活性の比を S/P 比として表わした。
- 9) 蛋白定量は牛血清アルブミンを標準とし、Lowry 法により測定した。

B. 実験成績

- 1) 健常ラット肝 β -GL の細胞内分布はライソゾームで最も高い活性を示したが、肝障害時には本酵素の肝細胞内での局在性に変化をきたし、又血清の酵素活性にも変動を生じた。即ち急性四塩化炭素障害ラットでは、ライソゾーム及び上清分画の比活性は著減し、肝の全活性も 7.3 ± 0.9 (健常肝 11.2 ± 0.6) と低値を示し血清では逆に高値を示した。慢性四塩化炭素障害ラットでは、ライソゾーム分画の比活性は同様低下し、上清分画の比活性及び全活性 (17.1 ± 1.2) は健常群に比し増加した。尚障害の進行に伴ない S/P 比は次第に大となり、障害12週以後では著増し、又血清 β -GL 活性も上昇した。
- 2) 健常ラットの肝葉結紮を行なうと本酵素の肝細胞内分布の変化は、結紮後30分でみられ殊に上清分画の比活性は結紮後次第に増加し、24時間後では非結紮肝葉の7倍以上となった。一方ミトコンドリア及びライソゾーム分画の比活性は結紮後速やかに減少した。又慢性障害ラットで同様結紮を行なうと、結紮肝葉の上清分画の本酵素活性の増加は、非結紮肝葉の約2倍で健常ラット肝のそれと明らかな差はなかったが、S/P 比障害肝で高値を示した。
- 3) 凍結融解あるいは Triton X-100 処理により、本酵素は顆粒分画より遊出したが、障害肝殊に急性障害肝は健常肝に比し遊出が著明であった。
- 4) 慢性肝障害ラットで四塩化炭素吸入を中止し、2週後では上清及び顆粒分画の比活性は著増し4週後でも上清分画の比活性は高値を持続した。
- 5) 健常及び慢性肝障害ラットにヒドロコルチゾンを投与したが、肝顆粒・上清分画及び血清中の本酵素活性には明らかな変化は認められず、副腎切除により健常肝で術後24時間の顆粒分画の比活性は軽度増加し、上清分画では著増し、S/P 比も大となり血清中の活性も高値を示した。これに反し、障害肝では顆粒分画の比活性は著増したが上清分画の増加は軽度で血清中の活性は殆んど不変であった。
- 6) 健常及び慢性肝障害ラット共に肝部分切除後の再生肝では切除24時間後でライソゾーム分画の比活性は著増した。

〔総括〕

- 1) 急性四塩化炭素障害ラットでは肝ライソゾーム及び上清分画の β -GL 比活性は共に著減し、血清中の活性は著増した。

- 2) 慢性四塩化炭素障害ラッテ肝では障害の進行に伴ない顆粒分画の比活性は次第に低下し、上清分画及び血清の活性は漸次増加し S/P 比も上昇した。尚慢性障害肝全ホモジネート中の活性は高値を示した。
- 3) 健常ラッテの結紮肝葉では上清分画の比活性は著増し、ライソゾーム分画では減少した。慢性障害ラッテの結紮肝葉では上清分画への β -GL の遊出は健常肝に比し著しかった。又凍結融解あるいは、Triton X-100 による顆粒分画より上清分画への本酵素の遊出は健常肝に比し障害肝殊に急性障害肝で著明であった。これらの成績から障害肝では健常肝に比し顆粒分画より上清分画へ本酵素は遊出しやすいものと考えられる。
- 4) グルココルチコイドは本酵素の肝細胞内分布に著しい影響を与えず、又副腎剔除は健常及び障害肝に対し異なった影響をおよぼした。
- 5) 再生肝ではライソゾーム分画の比活性が著増し、肝実質細胞中に本酵素が多量存在することが示唆された。
- 6) 以上の成績から、肝障害による血清 β -GL 活性の増加には、肝実質細胞の破壊あるいは肝細胞及び細胞内顆粒特にライソゾームの膜透過性亢進による酵素遊出と共に肝における酵素産生機序の亢進が関与すると考えられる。

論文の審査結果の要旨

N-Acetyl- β -Glucosaminidase は肝臓において高い活性を有し、また肝疾患患者で血清本酵素活性の上昇が知られているが、障害肝での本酵素の変動についてはいまだ不明である。

本研究は、まず本酵素が肝細胞内でライソゾーム顆粒に局在することを明らかにし、次いで障害肝では本酵素活性が特異的な分布異常を示すことを認め、その発現機序並びに血清中の酵素活性の変動との関連を明らかにしたもので、肝疾患の病態解明に寄与するのみでなく、臨床応用も期待しうるものである。