

Title	慢性肝障害における肝臓結合織基質酸性ムコ多糖体異常に関する研究
Author(s)	中村, 允人
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29916">https://hdl.handle.net/11094/29916</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	なかむらのぶと 中村允人
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1844 号
学位授与の日付	昭和 44 年 11 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	慢性肝障害における肝臓結合織基質酸性ムコ多糖体異常に 関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 阿部 裕 (副査) 教授 坂本 幸哉 教授 宮地 徹

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

慢性肝障害においては肝臓結合織線維成分の増加に先行して基質酸性ムコ多糖体 (AMPS) が増加するが、かかる変化の詳細及びその意義については未だ明らかでない。私は健常及び四塩化炭素慢性障害ラット肝より AMPS を抽出分離し、その量的・質的変動を詳細に検索すると共に、基質 AMPS の変化と線維成分の増加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) 実験動物には体重 200 g 前後の Sprague-Dawley 系雄性ラットを使用し、慢性肝障害は Morrione 法に従って週 2 回四塩化炭素吸入により惹起し、4, 8, 12, 16 及び 18 週後に脱血屠殺、摘出した肝臓を脱脂乾燥し下記の分析の試料とした。
- (2) 肝 AMPS の抽出分離は脱脂乾燥肝末をアルカリ処理、Pronase-P による蛋白消化、除蛋白、透析後 Cetylpyridinium chloride を用い分離、Schiller 等の方法に準じて食塩濃度差により Non-sulfated 及び Sulfated AMPS を分画した。AMPS 量はカルバゾール法 (Bitter-Muir) により測定し、ウロン酸量で示した。
- (3) Non-Sulfated, Sulfated 各分画につき精製ウシ卵丸性ヒアルロニダーゼに対する感受性の検討及びアミノ酸分析装置によるヘキソサミンの分画測定を行なった。
- (4) 肝コラゲン量は脱脂乾燥肝末を 6 N 塩酸で加水分解後 Stegemann 法によりヒドロキシシプロリンを定量し、この量で示した。
- (5) 肝 Sulfated AMPS の合成をみるため健常及び四塩化炭素慢性肝障害 8 週のラットに 0.5mCi の  $\text{Na}_2 \text{ } ^{35}\text{SO}_4$  を 24 時間毎に 2 回腹腔内注射、24 時間後に屠殺、肝 AMPS を分離し

Meyer 等のエタノール濃度による分画沈澱を行ない、各分画における  $^{35}\text{S}$  の比放射能を測定した。更にこの方法で得た  $^{35}\text{S}$ -Sulfated AMPS を鈴木等の方法により細菌性コンドロイチナーゼを用いて同定した。

## B 実験成績

- (1) 健常ラット肝の総 AMPS 量, Non-sulfated AMPS 量, Sulfated AMPS 量はそれぞれ  $159 \pm 26$ ,  $86 \pm 14$ ,  $73 \pm 19$   $\mu\text{g uronic acid/g dry defatted liver}$  であった。
- (2) 四塩化炭素慢性肝障害により肝総 AMPS 量は増加し、障害 8 週で約 2 倍に達したが以後はやや減少した。肝コラゲン量は障害進行と共に増加した。
- (3) Non-sulfated AMPS は障害初期に軽度増加し、障害 12 週以後健常値に復した。この分画は健常及び障害各時期を通じて 85% 以上羧性ヒアルロニダーゼで分解された。また大部分がグルコサミンを構成ヘキソサミンとして含有しているが、障害初期の総量の増加する時期に一致してガラクトサミンを含むものの軽度の増加が認められた。
- (4) Sulfated AMPS は四塩化炭素慢性肝障害により著増し、障害末期まで高値を持続した。この分画では羧性ヒアルロニダーゼによる分解率は障害の進行と共に低下し、ヘキソサミンとしてガラクトサミンを含むものの増加が著明であった。
- (5) Sulfated AMPS を羧性ヒアルロニダーゼ感受性とヘキソサミンの分画測定から、コンドロイチン硫酸 A 及び C, ヘパリン硫酸及びヘパリン, コンドロイチン硫酸 B の 3 分画に分けて各々の変動をみると、コンドロイチン硫酸 A 及び C は障害 12 週を中心に軽度の増加を示し、ヘパリン硫酸及びヘパリンは障害により僅かに増加したがその量は障害の進行によりほとんど変化せず、コンドロイチン硫酸 B は障害により急増し障害末期には健常肝の 6 ~ 7 倍の高値を示した。
- (6) 四塩化炭素慢性肝障害による肝コラゲン量の増加と肝総 AMPS 量との間には相関は認められないが、総 Sulfated AMPS, 総コンドロイチン硫酸, コンドロイチン硫酸 B の夫々との間にはこの順により高い正相関が存在し特にコンドロイチン硫酸 B との間には相関係数 + 0.872 と密接な相関関係が認められた。
- (7) 四塩化炭素慢性肝障害 8 週のラット肝 AMPS への  $^{35}\text{S}$  のとりこみは健常ラットの約 5 倍で、特に 20% エタノール沈澱分画へのとりこみは健常の 20 倍以上にも増加していた。この 20% エタノール沈澱分画の  $^{35}\text{S}$ -AMPS の大部分がコンドロイチン硫酸 B であることを細菌性コンドロイチナーゼを用いて同定した。

### 〔総括〕

- (1) 健常ラット肝の総 AMPS 量は約  $150 \mu\text{g uronic acid/g. dry weight}$  で、Non-sulfated 及び Sulfated AMPS がほぼ等しい比率を占める。
- (2) 四塩化炭素慢性肝障害により肝総 AMPS 量は障害 8 週をピークとして約 2 倍に増加し、以後やや減少する。この増加は Sulfated AMPS により著明で、中でも特に羧性ヒアルロニダーゼで分解されず、ガラクトサミンを含む AMPS 即ちコンドロイチン硫酸 B の増加が最も著しい。Non-sulfated AMPS は障害初期に軽度増加するが以後は健常値に復する。

- (3) 四塩化炭素慢性障害肝ではコラゲン量とコンドロイチン硫酸B量との間には極めて高い相関関係が認められる。
- (4) 四塩化炭素慢性障害肝では Sulfated AMPS, 特にコンドロイチン硫酸Bの著明な合成昂進がある。

### 論文の審査結果の要旨

慢性肝疾患での肝臓間質結合織の異常増殖は極めて重要な病態であるが、未だその発現機序は明らかではない。

本研究は実験的慢性肝障害動物を用い、肝臓結合織増殖に伴う肝臓間質中の基質酸性ムコ多糖体の量及び質的变化に関して詳細に検討し、肝臓間質結合織の増殖に際し特異的な変化を来たすことを明らかにし、ことにコンドロイチン硫酸B量と肝臓コラゲン量の増加との間には密接な関連があることを立証した。更に慢性障害肝ではコンドロイチン硫酸Bの合成昂進のあることを明らかにし、かかる合成昂進が肝臓コンドロイチン硫酸B量の増加と関連あることを示した。

上記研究成果は慢性肝障害の間質結合織異常増殖機序解明に有力な示唆を与えるもので、今後の臨床的応用も期待し得る。