The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	障害肝の酸性ムコ多糖体硫酸化能に関する研究
Author(s)	河崎, 晃
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29920
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【40】

氏名・(本籍)	河崎　晃（かわさき　あきら）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1854 号
学位授与の日付	昭和 44 年 12 月 15 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	**障害肝の酸性ムコ多糖体硫酸化能に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 阿部　裕
	(副査) 教授 佐野　勇　教授 坂本　幸哉

論文内容の要旨

〔目　　的〕

肝線維化進行過程では肝酸性ムコ多糖体（AMPS）の量的質的変化がおこり，特に硫酸 AMPS の増加が特異的で，これが肝ハイドロオキシプロリン量と高い相関を示すことが知られている。一方 AMPS の硫酸化はアデノシン—5′—3リン酸（ATP）と無機硫酸から酵素反応（硫酸活性化酵素）により合成された活性硫酸（PAPS）が硫酸供与体となり，AMPS に酵素反応（AMPS 硫酸化酵素）により硫酸基を転移して行なわれる。

又 AMPS の硫酸化にはビタミンAが関連することも知られている。そこで私は慢性障害肝の AMPS 異常発現機序を明らかにするため，肝 AMPS 合成能ことに硫酸化能の異常について検討した。

〔方法及び成績〕

A　実験動物及び酵素材料

体重 200g 前後の Sprague-Dawley 系雄性ラット4匹を1群とし，肝障害群は Morrione 法に従い四塩化炭素を週2回宛1，1.5，2.5，及び4.5カ月間吸入せしめ，又ビタミンA投与群はビタミンAアセテートを体重 100g 当り 20000 I. U. 宛1日1回4日間経口投与し，肝細胞分画は0.25M蔗糖液で10%ホモジネートとし，de Duve らの方法に準じて行なった。

B　肝硫酸活性化酵素活性について

(1)　健常ラット肝細胞各分画の酵素活性

酵素活性の測定は Suzuki らの方法に従って 37°C，1時間酵素反応後沪紙電気泳動法により〔^{35}S〕PAPS を分離し，windowless ガスフローカウンターで計測した。

酵素活性は上清分画に局在し，核，ミトコンドリア，ライソゾーム，ミクロソーム各分画

にはほとんど認められなかった。

(2) 四塩化炭素肝障害ラット肝の酵素活性

障害1及び1.5カ月では肝上清分画で健常群に比し，それぞれ1.5倍及び2倍の活性を示したが，顆粒分画では明らかな差異がみられず，障害2.5カ月では肝上清及び顆粒分画共差異はなかった。

(3) ビタミンA投与の影響

健常ラットにビタミンAを投与すると，全ホモジネート及び上清分画共酵素活性は著増したが，障害ラットにビタミンAを投与すれば，逆に酵素活性は減少した。

C AMPS 硫酸化酵素活性について

(1) 健常ラット肝細胞分画の酵素活性

酵素活性の測定は Suzuki らの方法に従って 37°C，2時間酵素反応後，25%醋酸カリウム液 0.15ml，エチルアルコール 1.5ml を加え遠沈，同様の操作を更に2回行なった後，沈渣を 2.0ml の水に溶解，純水で透析後遠沈，その上清の一部を windowless ガスフローカウンターで AMPS に転移した〔^{35}S〕を計測した。

比活性はミクロソーム分画，次いで上清分画に高く，核，ミトコンドリア及びライソゾーム分画にほとんど認められなかった。

(2) 四塩化炭素肝障害ラット肝の酵素活性

障害ラットでは全ホモジネート及び上清分画（ミクロソームを含む，以下同様）共健常ラットに比し高く，障害が進行しても高値を持続した。

(3) ビタミンA投与の影響

健常ラットにビタミンAを投与すると，本酵素活性は上清分画では不変，全ホモジネートでは減少した。慢性障害ラットにビタミンAを投与すると全ホモジネート及び上清分画共活性は減少した。

(4) 〔^{35}S〕PAPS よりデルマタン (desulfated chondroitin sulfate B) 及びコンドロイチン (desulfated chondroitin sulfate C)への〔^{35}S〕の取り込み。

慢性肝障害ラットの肝に於ける〔^{35}S〕PAPS から〔^{35}S〕のデルマタン及びコンドロイチンへのとりこみは健常ラット肝に比し増加した。

又障害ラット肝ではデルマタンへのとりこみの増加はコンドロイチンに比し著明であった。

(5) 〔^{35}S〕PAPS より肝酸性ムコ多糖体への〔^{35}S〕のとりこみ

0.1M phosphate buffer, pH 7.0 で20%肝ホモジネートを作り，上清及びミクロソーム分画を酵素材料及び〔^{35}S〕PAPS 受容体とし，37°C，2時間酵素反応後プロナーゼで蛋白消化，除蛋白後 Schiller 法に従って cetyl pyridinium chloride を加えて AMPS を沈澱，2.1M NaCl で AMPS 分画を抽出し，分画中の〔^{35}S〕AMPS の放射能を測定した。AMPS 分画中への〔^{35}S〕のとりこみは健常群に比し障害群では肝障害進行と共に次第に増加した。

〔総　　括〕

(1) 健常ラット肝の硫酸活性化酵素活性は上清分画に局在し，AMPS 硫酸化酵素の比活性はミクロソーム分画，次いで上清分画に高かった。

(2) 慢性四塩化炭素障害ラット肝の硫酸活性化酵素活性は健常ラットに比し障害初期に高値でその後漸減，障害2.5カ月で健常値に近い活性を示した。一方 AMPS 硫酸化酵素活性は健常ラットに比し高値で障害が進行しても高値を持続した。

(3) 健常ラットに大量のビタミンAを投与すると肝の硫酸活性化酵素活性は非投与群に比し上昇したが，四塩化炭素障害ラットでは逆に減少した。又 AMPS 硫酸化酵素活性は非投与群に比し健常及び障害ラット共に減少した。

(4) コンドロイチンあるいはデルマタンを受容体とし，健常及び慢性肝障害ラットの肝 AMPS 硫酸化酵素活性を測定すると，いずれも障害肝では健常肝に比し高値で，デルマタンを基質とした時の活性はコンドロイチンを基質とした時に比し高値を示した。

(5) 肝抽出液中の酸性ムコ多糖体を硫酸基受容体として AMPS 硫酸化能を測定すると，慢性障害肝では健常肝に比し高値であった。

論文の審査結果の要旨

慢性肝障害の重要な病態に間質結合織の異常増殖があるが，その発現機序は明らかでない。本研究は慢性障害肝においては結合質基質中に硫酸酸性ムコ多糖体が著増し，これが肝コラゲン量と密接な関連のあることに着目し，障害肝での酸性ムコ多糖体硫酸化能の異常を明らかにするため PAPS 生成能及び PAPS より SO_4 基転移能を酵素学的に詳細に検討し，その異常の実態を明らかにしたもので，慢性肝疾患の病態の解明に寄与するところ大で，臨床応用が期待できる。