



Title	虚血肝におけるGOTアイソザイムの逸脱機序
Author(s)	西村, 正
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33956">https://hdl.handle.net/11094/33956</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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	にし 西	むら 村	ただし 正
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	6 4 0 5	号
学位授与の日付	昭和 59 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当		
学位論文題目	虚血肝における GOT アイソザイムの逸脱機序		
論文審査委員	(主査) 教授 田川 邦夫 (副査) 教授 川島 康生 教授 和田 博		

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

肝は脳と同様、無酸素状態にきわめて弱い臓器である。臨床的には肝移植時や肝切除時の一時的血行遮断による傷害程度の指標として、肝より血中への種々の逸脱酵素が測定されてきた。私達はラット肝の実験的虚血モデルを用い、ミトコンドリア(Mt)及び細胞質局在の酵素が細胞傷害の程度に応じそれぞれ異なった様式で血中に逸脱することを見出し、その生化学的機序の解明を追求してきた。またこの酵素の血中への逸脱量により細胞傷害の程度を知ることが目的とした。

#### (方 法)

SD系雄性ラットの肝左外側葉を一定時間クランプした後、血流を再開する系を用いた。経時的に採血した血清中のsGOT(細胞質局在GOT)及びmGOT(ミトコンドリア局在GOT)並びに肝内の両アイソザイム量は、抗体法又は電気泳動法にて分別定量した。肝内アデニンヌクレオチド含量は高速液体クロマトグラフィーにて定量した。無酸素肝灌流は窒素で飽和したKrebs-Henseleit buffer (pH7.4)を流速15~17ml/minで行ない、肝表面温度は32℃に保った。

#### (成 績)

肝虚血後、血流を再開すると血中に急速に細胞質局在のsGOTが漏出し、その活性は約2時間でピークに達する。もう一つの細胞質局在の乳酸脱水素酵素(LDH)でも同様の傾向を示した。これに対し、Mt局在のmGOTは漏出がはるかに遅れ、10数時間でピークに達する。この漏出の遅れは他のMt局在酵素であるオルニチントランスカルバミラーゼでも同様に見られるのでMtマトリックス局在酵素に共通するものと思われる。単離したMtにおいてもマトリックス酵素はMtが酸化的りん酸化能を失う2

時間の無酸素下保温(25℃)では漏出せず、完全に漏出するためにはさらに10数時間を要することから、この漏出の遅れは Mt 自体の性質によることが明らかになった。このことは、Mt 膜のタンパク質に対する拡散障壁は、酸化的りん酸化の機能が失なわれてもなお、かなりの時間保たれることを意味しており、Mt 局在酵素が血中に漏出するのは細胞構築の完全崩壊後、すなわち細胞壊死後に漏出するものと考えられる。これに対し、細胞表面膜の拡散障壁は細胞内 ATP レベルが低下すると容易に傷害を受け、細胞質局在酵素は短時間で血中に漏出するが、虚血時間が短かければ血流再開により ATP レベルの回復とともに修復され得る。このことはまた、エチオニン投与により部分的に肝内 ATP レベルを低下させた場合、細胞質局在の sGOT のみが漏出することから確認された。虚血時間と酵素の漏出量との関係を見ると肝内 ATP レベルが10%以上残存する15分以内の虚血肝では、血流再開後血中に sGOT の漏出が軽度のみみられるのみで、mGOT は認められないが、ATP レベルがほとんど0になる30分以上の虚血後は、mGOT の漏出が認められるようになり、虚血時間の長さによってその漏出量は増大した。Mt 及び細胞質局在酵素の漏出様式の違いは肝灌流の実験でも示すことができた。無酸素下の灌流により sGOT や LDH は急速に漏出し、その量は4時間でもとの肝内含量の80%以上に達するが、その間 mGOT はほとんど漏出しなかった。

肝虚血後、血中に漏出して来る GOT アイソザイム量を測定し、虚血肝の傷害範囲を推定しようと試みた。m 及び sGOT 漏出総量を計算し、それに対応する肝内含量の変化と比べてみると mGOT は、肝内含量減少分が血中漏出総量と一致することが明らかになった。このことは mGOT の血中漏出総量から虚血肝の壊死範囲を推定できることを示している。実際に種々の肝虚血実験で、主要な細胞構成成分の変化を mGOT の血中漏出総量と対応させてみた。総アデニンヌクレオチド量および総 RNA 量は血中漏出量と対応して減少することが明らかになった。DNA およびりん脂質含量の変化では、このような mGOT の血中漏出総量との量的対応関係はみられなかった。前二者の成分は細胞壊死とともに消失することが考えられるので、両者の間の対応関係を示唆している。このことを直接証明するため、組織学的に壊死範囲の測定を行ったところ、血中漏出総量との間に、同様の量的対応関係を確認できた。これに対して、sGOT の血中漏出総量は1時間迄の虚血ではその長さによって増大するが、1時間を超すと必ずしも比例しなくなり、壊死範囲を表わす上記の指標と良い相関は得られなくなる。これは肝虚血中に mGOT はほとんど失活しないが、sGOT は急速に活性を失うため血流再開後、血中に回収される活性はみかけ上小さくなっていくためである。

#### (総括)

- 1) 虚血傷害肝から血中への細胞内酵素の逸脱機序を調べた。細胞質局在の酵素は、血流再開後短時間で漏出するが、Mt マトリックスのものは10数時間遅れて最高値を示した。
- 2) マトリックス酵素の漏出が遅れることは無酸素灌流肝実験でも示された。
- 3) 漏出 mGOT は壊死細胞に由来すると考えられ、実際にその血中漏出量から判定される壊死の大きさと生化学的、組織学的に判定された壊死の大きさと一致した。
- 4) sGOT は、細胞内 ATP レベルの低下による細胞表面膜の傷害が起ると直ちに血中へ漏出するため、軽度の細胞傷害の場合は良い指標となる。

## 論文の審査結果の要旨

本研究はラット虚血肝モデルを用いて血中へのGOTアイソザイムの逸脱機序を解明したものである。

細胞質局在のsGOTの逸脱は細胞内ATPレベルの低下と密接な関係があり、又、ミトコンドリア局在のmGOTは壊死細胞由来であることを明らかにした。

これらの研究は今までtotal GOT活性しか測定していなかった臨床検査に、アイソザイムに分けて測定する意義を与え、さらに進んだ病態の解析に寄与するものと思われる。以上のことから本論文は医学博士論文として価値あるものと認める。