



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 血漿微量アミン同時測定法の開発ならびに肝障害症例におけるその応用                                                                                                                |
| Author(s)    | 米倉, 竹夫                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1987, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/35285">https://hdl.handle.net/11094/35285</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">大阪大学の博士論文について</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) | 米 倉 竹 夫                                     |
| 学位の種類   | 医学博士                                        |
| 学位記番号   | 第 7686 号                                    |
| 学位授与の日付 | 昭和62年3月26日                                  |
| 学位授与の要件 | 医学研究科外科系専攻<br>学位規則第5条第1項該当                  |
| 学位論文題目  | 血漿微量アミン同時測定法の開発ならびに肝障害症例における<br>その応用        |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 岡田 正<br>(副査)<br>教授 川島 康生 教授 和田 博 |

## 論文内容の要旨

### 〔目 的〕

重症肝障害症例にしばしば認められる神経、意識障害や様々な循環障害の病因として、アミン代謝異常に伴う神経伝達障害が考えられている。中でもフェニールアラニンやチロジンを前駆物質とし、一連の生成代謝系にあるフェネチラミン (PEA)、フェニールエタノールアミン (PEOH)、チラミン (TRM) およびオクトパミン (OCT) などの芳香族微量アミンが肝不全物質として推測されてきた。本研究では、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いたこれら血漿微量アミンの同時測定法を開発し、種々の程度の肝障害症例に於ける血漿微量アミン値の分析を行ない、肝機能障害に伴う血漿微量アミン値の変動を検討した。

### 〔方法及び成績〕

#### I. HPLCを用いた血漿微量アミン同時測定法

1. 測定法: ヘパリン化血 5 ml に 0.2 M の EDTA-2Na と  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  を各 50  $\mu\text{l}$  添加し、得られた血漿 2.0 ml に内部標準として 40 pmole のベンジラミンを加え、2.5% の過塩素酸にて除蛋白した。その分離上清を Amberlite CG-50 カラムに添加し、微量アミン分画を分離した。これを Sep-Pak C18 にて精製し、フルオレスカミンと反応させた後、酢酸エチルにて抽出し、HPLC に注入した。HPL システムは島津 RF-530 蛍光検出器、及び島津 C-R2A クロマトパック インテグレーターを接続した島津 LC-4A を、カラムは ODS-120T (4.5  $\times$  250 mm) を用いた。移動層は 0.05 N クエン酸緩衝液 pH 2.5 / メタノール / 酢酸エチル (42 / 40 / 18) の混合液を用い、流速は 0.8 ml / min とし、蛍光は励起波長 390 nm、蛍光波長 475 nm で定量した。

2. 感度・再現性：各微量アミンの検出限界は0.2pmole/mlで、そのまた回収率はPEA : 76.3, PEOH : 74.5, TRM : 93.3, OCT : 90.4%で、変異係数はそれぞれ2.54~8.62%であった。また各微量アミンとも1 pmole~80pmoleの間で直線性を示した。
3. 正常値：健常成人16例における血漿微量アミン値はPEA :  $0.33 \pm 0.23$ , PEOH :  $0.70 \pm 0.53$ , TRM :  $0.49 \pm 0.37$ , OCT :  $0.75 \pm 0.50$ pmole/mlで、性差は認めなかった。

## II. 肝障害症例に於ける血漿微量アミン値の分析

1. 対象及び方法：肝障害症例の内訳は、代償性肝硬変症例（代償群）8例、肝性脳症の既往のない非代償性肝硬変症例（非代償群）6例、脳症を合併した肝硬変症例（慢性肝不全群）4例、及び急性肝不全症例（急性肝不全群）4例である。また肝腎障害や意識障害のない小手術症例8例を対照群とした。全例に対し一般肝機能検査、血漿アミノ酸値及び微量アミン値の測定を行なった。更に慢性及び急性肝不全症例において、意識障害の変動をAdams & Foleyの基準に従い分類し、意識障害の程度と各血漿微量アミン値との関連を検討した。血漿アミノ酸は5%スルホサリチル酸にて除蛋白後、日立835型アミノ酸分析器にて測定した。尚、対照群の血漿微量アミン値と健常成人値との間には有意差は認めなかった。また慢性及び急性肝不全症例に対しては、肝不全用アミノ酸液を含んだ高カロリー輸液が施行されていた。
2. 結果：代償群、非代償群では対照群に比べ芳香族アミノ酸値の上昇を認めた。慢性肝不全群では肝不全用アミノ酸液の投与によると思われる分岐鎖アミノ酸値の上昇を認めたが、芳香族アミノ酸は高値を示した。急性肝不全群では高アミノ酸血症を認めた。一方血漿微量アミン値を比較すると、慢性肝不全群では対照群、代償群ならびに非代償群に比べ、PEA, RPOH及びTRM値の有意な上昇を認めた。また慢性肝不全群及び非代償群では対照群に比べOCT値の増加を認めた。更に急性肝不全群では、OCTのピークが他の未同定ピークにより検出できなかった2例を除き、全症例とも各微量アミン値の著名な上昇を認めた。慢性及び急性肝不全群における意識障害の変動と血漿微量アミン値の変化を比較したところ、意識障害の進行時には血漿PEOH及びTRM値の著しい上昇を認めたが、PEA及びOCT値の変化は有意でなかった。

### [総括]

1. フルオレスカミンを用いた、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法による血漿PEA, PEOH, TRM及びOCTの同時測定法を開発した。
2. 肝性脳症を呈した慢性肝不全症例ならびに急性肝不全症例では血漿芳香族アミノ酸値の増加を認めるとともに、血漿PEA, PEOH, TRM及びOCT値の有意な上昇を認めた。更にこれら症例では意識障害の進行時に血漿PEOH及びTRM値の著しい上昇を認め、肝不全時に於けるアミン代謝異常が示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

本研究では肝不全症状の原因物質として注目されているフェネチラミン、フェニールエタノールアミン、チラミン及びオクトパミンなどの微量アミンを、フルオレスカミンを用いた高速液体クロマトグラフィーにより同時測定する方法を開発した。その信頼度は高く、また測定法として適切であることを示した。この方法を用い、臨床例において肝障害に伴う血漿微量アミンの変動を検討し、肝性脳症症例に於ける微量アミンの増加を指摘した。これまで肝性脳症症例に於けるフェネチラミンの増加や、脳症の程度と各微量アミンの変動を同時に検討した報告はなく、本研究は今後重症肝障害時のアミン代謝の病態を解明するとともに、治療効果を判定するうえでも有用であるものと評価できる。