



Title	Depression of Plasma Gelsolin Level during Acute Liver Injury
Author(s)	伊藤, 裕章
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37684
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

氏 名	伊 藤 裕 章
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 0 0 7 5 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Depression of Plasma Gelsolin Level during Acute Liver Injury (急性肝障害時における血漿ゲルゾリン濃度の低下)
論文審査委員	(主査) 教 授 岸 本 忠 三 (副査) 教 授 鎌 田 武 信 教 授 大 河 内 寿 一

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

アクチンは筋細胞のみならず非筋細胞にも豊富に含まれるタンパク質である。アクチンは生理的イオン強度下ではモノマーが重合してF-アクチンとなり、その溶液は非常に高い粘性を示す。組織障害の結果、細胞内から血中へアクチンの逸脱がおこれば、アクチンは重合して血液の粘性を増加させたり、F-アクチンに結合したADPが血小板の凝集を促進して、微小循環を障害する可能性が考えられる。一方、血液中には2種類のアクチン結合タンパク質、すなわちゲルゾリンとビタミンD結合タンパク質(DBP)が比較的多量に存在する。DBPはアクチンモノマーとのみ結合する重合阻害因子で、F-アクチンをゆっくりと脱重合する。これに対してゲルゾリンはF-アクチン切断作用と、F-アクチンの(+)端をCAPして(-)端からの脱重合を引き起こす活性を有する。これらのアクチン結合タンパク質は、協同して血中へ逸脱したアクチンの処理を行っているのではないかと推測されている。実際ゲルゾリンとDBPの血中からの消失は、アクチンと複合体を形成することによって促進されることが動物実験で示されている。そこで本研究では、ヒト血液中でアクチン処理機構を検討するため、最大の臓器である肝の急性障害を対象に血漿ゲルゾリン濃度の測定を行った。

(方法ならびに成績)

測定対象は正常コントロール43名、急性肝炎14例、肝癌TAE症例7例、肝癌非合併肝硬変7例で、クエン酸ナトリウム添加により血漿を得た。また急性肝炎と肝癌TAE症例からは、経時的に採血を行った。血漿ゲルゾリン濃度の測定のためにELISAを確立した。まずゲルゾリンをヒト血漿から硫酸沈澱、DEAE-セファロースクロマトグラフィー、Cibacron Blue F3 GAクロマトグラフィーにより精製し

た。さらに調製用 SDS-PAGE で精製したもので家兔を免疫して抗ゲルゾリン抗体を得た。測定はマイクロタイタープレートにゲルゾリンを固相化し、希釈検体と抗体を 4℃-夜反応させ、固相に結合した抗体をペルオキシダーゼ標識した二次抗体で検出し、基質の発色を吸光度測定した。これを標品ゲルゾリンで得た標準曲線と比較し、血漿ゲルゾリン濃度を求めた。三重測定を行ない、測定間変動は 9.8%であった、正常コントロールの値は $226 \pm 52 \mu\text{g/ml}$ で、急性肝炎極期には $80 \pm 40 \mu\text{g/ml}$ と有意の低下を示し ($p < 0.001$)、回復後は $232 \pm 38 \mu\text{g/ml}$ とコントロールと同水準にまで増加した。急性肝炎経過中の血漿ゲルゾリン濃度は、ALT、AST、総ビリルビン値、LDH と有意な負相関を示し、アルブミン値とは正相関を示した ($p < 0.001$)。一方、肝癌例は全て肝硬変の状態にあり、TAE 前値は $182 \pm 42 \mu\text{g/ml}$ で、コントロールに比べて有意に低値 ($p < 0.05$) であったが、肝癌非合併肝硬変例の $182 \pm 70 \mu\text{g/ml}$ と有意差がなかった。TAE の 1～4 時間後には $87 \pm 41 \mu\text{g/ml}$ の最低値を示し、これは前値に比べて有意な低下であった ($p < 0.001$)。経過中の血漿ゲルゾリン濃度は総ビリルビン値と負相関を示し、LDH と弱い負相関を示したが ALT、AST、アルブミン値とは相関しなかった。

DNase I-セファロースを用いて、血漿からアクチン-アクチン結合タンパク質複合体を得、SDS-PAGE、ウェスタンブロットを行い、肝炎極期と TAE 直後に複合体が多く存在することが分かった。

(総括)

急性肝障害の際に血漿ゲルゾリン濃度が低下し、血漿中にアクチンとの複合体が証明されたことから、組織損傷に伴ってアクチンの逸脱が起これ、ゲルゾリンはアクチンと結合して急速に血中から消失していくと考えられた。また、アクチンモノマーは、血中では DBP に優先的に結合することから、血中へ逸脱したアクチンは、F-アクチンが相当な割合を占めていることが示唆された。本研究は、アクチンの逸脱とその処理機構を理解する上で有用であると思われる。

論文審査の結果の要旨

血漿ゲルゾリンはアクチンフィラメントを切断するタンパク質で、組織損傷の際に血中に逸脱して微小循環障害をおこす可能性のあるアクチンの処理をおこなっていると考えられている。本研究は、独自に ELISA 法を確立して血漿ゲルゾリン濃度を測定し、急性肝炎の極期と肝癌 TAE 療法の直後にこれが著明に低下することを明らかにしたものである。

アクチンの処理という生体防御機構の解析は、組織損傷を伴う病態の理解や治療の上で重要であり、本研究は学位の授与に値する。