

Title	門脈・下大静脈吻合ラットのアミノ酸代謝並びに脳内モノアミン動態に及ぼすアンモニアの影響に関する基礎的検討
Author(s)	國場, 幸史
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37775
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	こくばゆきふみ 國 場 幸 史
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 0 0 7 9 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	門脈・下大静脈吻合ラットのアミノ酸代謝並びに脳内モノアミン動態に及ぼすアンモニアの影響に関する基礎的検討
論文審査委員	(主査) 教 授 鎌田 武信 (副査) 教 授 和田 博 教 授 安東 明夫

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

肝不全患者では、肝機能障害あるいは門脈-大循環短絡により循環血流中へのアンモニア流入の増加による高アンモニア血症が認められることが多く、また血漿遊離アミノ酸パターンの特徴的な不均衡を呈することが知られている。アンモニアは古くから脳症誘発物質として研究されてきたが、この血漿遊離アミノ酸パターンあるいはそれに伴う脳内のアミノ酸及びモノアミン代謝に及ぼす影響は明らかにされてはいない。本研究は門脈-大循環短絡モデルラットを用い、血漿及び臓器内アミノ酸代謝並びに脳内アミン動態に及ぼすアンモニアの影響をより詳細に調べ、肝性脳症治療におけるアンモニア制御の意義を明らかにしようと検討したものである。

(方 法)

1) 実験動物

8 週齢の SD 系雄性ラットを用い、Funovics らの方法に従って門脈・下大静脈吻合 (PCA) ラットを作製し、2 週間後に実験に使用した。

2) 動物実験

実験 1 では血漿及び脳内遊離アミノ酸並びに脳内モノアミン動態に及ぼすアンモニアの影響を検討した。PCA ラットに神経症状を発現する量の塩化アンモニウム液 (4.2 mmole/kg, i.p.) を投与し、40 分目に無麻酔下にて断頭採血した。採取した全脳は液体窒素にて急速凍結し -80°C で保存した。実験 2 ではアンモニア代謝並びに分岐鎖アミノ酸代謝と関連のある筋肉において、アンモニア投与後のアミノ酸代謝を経時的に検討した。また血漿遊離トリプトファン (Trp) の経時変化についても検討

した。塩化アンモニウム液投与前、投与後 5, 15, 30 及び 60 分に断頭採血し、速やかに血液及び腓腹筋を採取した。腓腹筋は秤量後、液体窒素で急速凍結し、 -80°C で保存した。測定は血漿 Trp 及び筋肉内遊離アミノ酸含量について行った。

3) 測定方法

血漿及び臓器内遊離アミノ酸は常法によりアミノ酸を抽出後、凍結乾燥したサンプルを一定量のクエン酸リチウム緩衝液 (pH 2.2) に溶解したのち、アミノ酸自動分析機で測定した。なお、抽出率の補正のためノルロイシンを内部標準として添加した。また、血漿遊離及び総 Trp は蛍光法で測定した。脳内モノアミン及び Trp は 0.15 N ギ酸・アセトン (85 : 15) 混液でホモジナイズ後、上清を分取し窒素ガスで乾固した。以下、酢酸緩衝液、60% 過塩素酸、4 N-水酸化カリウム液を加え攪拌、冷却遠心後、上清を分取し、 -80°C で凍結保存した。測定は電気化学検出器を装着した高速液体クロマトグラフィーにて行った。

(成 績)

- 1) アンモニア投与初期より神経症状 (活動性の低下) の発現がみられ、15 分前後より昏睡 (正向反射の消失) に陥った。
- 2) 血漿分岐鎖アミノ酸 (ロイシン, イソロイシン, バリン : BCAA) 濃度は PCA ラットで有意に減少したが、この減少はアンモニア投与でさらに促進された。
- 3) 血漿フェニルアラニン (Phe) 及びチロシン (Tyr) 濃度は、アンモニア投与により有意な変動を示さなかった。
- 4) 血漿遊離 Trp 濃度はアンモニア投与初期より著明に増加した。
- 5) 腓腹筋の BCAA 含量はアンモニア投与で有意に減少した。一方、脳内の Phe, Tyr 及び Trp 含量はアンモニア投与で増加傾向を示した。
- 6) 脳内インドールアミン代謝は、血漿遊離 Trp 濃度の増加による脳内への流入増加を反映し亢進した。一方、ノルアドレナリン及びドーパミン含量は PCA ラットあるいはアンモニア投与によっても有意な変動を示さなかった。

(総 括)

PCA ラットにおいて、アンモニアは血漿 BCAA 濃度の減少あるいは血漿遊離 Trp 濃度の増加を促進するが、血漿 Phe 及び Tyr 濃度には影響しなかった。このため、血漿中の Phe, Tyr 及び遊離 Trp の BCAA に対する相対的な増加が、脳内へのこれらのアミノ酸の流入を促進させるものと考えられた。また、脳内への Trp の流入増加に伴うインドールアミン代謝の亢進が示唆されたが、カテコールアミン含量の変動は認められなかった。さらに、アンモニア投与で筋肉内 BCAA 含量の有意な減少が認められたことより、アンモニア代謝に伴う BCAA の消費亢進が示唆された。以上、PCA ラットの神経症状発現には、脳内インドールアミン代謝の亢進が関与すると考えられ、アンモニアはその代謝に伴う BCAA の消費を亢進する結果、血漿 BCAA 濃度を低下させ、脳への Trp 流入を促進させると推察された、これらのことより、肝性脳症時には、血漿遊離アミノ酸パターンの是正と共に、高アンモニア血症の改善にも留意することが重要であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

肝不全時の血中遊離アミノ酸パターンの変動が肝性脳症発現と密接に関連していることは明らかになっている。しかし、このアミノ酸パターンの変動が何に起因するものなのか、あるいは脳症発現にどのように結びついているのかは、一定の見解に達していない。

本研究は肝不全患者で多くみられる血中アンモニアの増加に着目し、神経症状発現時の血中遊離アミノ酸パターン並びに脳内アミノ酸及びモノアミン代謝に及ぼすアンモニアの影響を基礎的に検討したものである。その結果、アンモニアは血中分岐鎖アミノ酸濃度の減少、遊離型トリプトファン濃度の増加を促進することが明らかとなり、またこの血中アミノ酸パターンの変動に伴う脳内インドールアミン代謝の亢進を確認し、脳症発現と関連性を明示した。さらに、筋肉におけるアンモニア代謝に伴う分岐鎖アミノ酸の消費亢進が血中分岐鎖アミノ酸の減少に深く関係していることを明らかにし、肝性脳症治療における分岐鎖アミノ酸補充意義を明確にした。本検討結果は、今後の肝性脳症治療のあり方、さらには治療薬開発の基礎となるものであり、学位に値する。