



Title	Altered Lipid Composition and Differential Changes in Activities of Membrane-Bound Enzymes of Erythrocytes in Hepatic Cirrhosis
Author(s)	垣本, 洋希
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40344">https://hdl.handle.net/11094/40344</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	かき 垣 本 洋 希
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 6 8 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 9 月 19 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	Altered Lipid Composition and Differential Changes in Activities of Membrane-Bound Enzymes of Erythrocytes in Hepatic Cirrhosis (肝硬変症における赤血球膜脂質組成の変化と膜酵素活性の変動)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 沢 佑 次 (副査) 教 授 門 田 守 人 教 授 谷 口 直 之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

慢性肝疾患においては、血漿 lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) 活性の低下にともない、赤血球膜、血小板等の細胞膜コレステロール含量が増加し、膜流動性が低下することが知られている。したがって、細胞膜の流動性の変化は膜酵素活性に影響を与えることが予想され、そのため膜流動性の低下は、肝硬変患者における全身諸臓器の機能障害を惹起すると考えられる。本研究は、ウイルス肝炎後の肝硬変症患者を Child-Pugh 分類に応じて重症度を分類し、各群における赤血球膜脂質組成と膜流動性を比較し、さらに膜流動性の変化が膜酵素活性に及ぼす影響について検討することにより、肝硬変における全身諸臓器の機能障害と細胞膜流動性の低下との関連性を明らかにすることを目的とした。

### 〔方 法〕

HBs 抗原、または HCV 抗体が陽性の肝硬変症患者39例 (Child-Pugh A(A)12例; B13例; C14例) を対象とした。また健常者14例を正常群 (N) とした。すべての患者ならびに健常者のアルコール摂取量は80 g/day 以下であった。血漿 LCAT 活性は Chen らの方法で、また赤血球膜の fluorescence polarization は diphenylhexatriene を用い Shinitzky らの方法により測定した。acetylcholinesterase (AChE) 活性の測定は Ellman らの方法で、Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase および Mg<sup>2+</sup>-ATPase は Jenkins らの方法でおこなった。

### 〔成 績〕

- 1) 肝硬変症の重症度の増加にともなって赤血球膜の free cholesterol/phospholipid molar ratio (C/PL) は増加 (N, 0.798±0.010; A, 0.911±0.010; B, 0.941±0.011; C, 0.979±0.028) した。また血漿の C/PL は増加 (N, 0.498±0.017; A, 0.553±0.010; B, 0.592±0.011; C, 0.617±0.018) し、LCAT 活性は低下 (N, 155.2±8.1 nmol cholesterol esterified/hr/ml; A, 49.1±2.9; B, 40.8±5.7; C, 27.1±3.2) した。赤血球膜 C/PL と血漿 C/PL の間には有意な相関が見られた (r=0.603, P<0.001)。赤血球 C/PL は、血漿 LCAT 活性とも相関が見られた (r=0.833, P<0.01)。
- 2) 赤血球膜の脂肪酸組成では polyunsaturated fatty acids と unsaturation index (UI) (Σ percentage of fatty

acid×number of double bonds) は肝硬変症で正常群と比較して差はなかった。

- 3) 肝硬変症の重症度の増加にともなって、赤血球膜の fluorescence polarization は増加 (すなわち流動性は低下) (N,  $0.340 \pm 0.002$ ; A,  $0.348 \pm 0.002$ ; B,  $0.351 \pm 0.002$ ; C,  $0.355 \pm 0.002$ ) した。
- 4) 赤血球膜 fluorescence polarization に対する赤血球膜 C/PL, phosphatidylcholine/sphingomyelin ratio (PC/SM), UI の寄与について検討するために、重回帰分析をおこなったところ、C/PL が fluorescence polarization と相関 ( $r=0.629$ ,  $P<0.001$ ) し、PC/SM あるいは、UI との間に相関はなかった。
- 5) AChE 活性は、Child-Pugh A の肝硬変症で低値を示し、重症度の増加によりさらに低下 (N,  $3.86 \pm 0.15 \mu\text{mol mg protein/min}$ ; A,  $3.31 \pm 0.16$ ; B,  $3.03 \pm 0.21$ ; C,  $2.57 \pm 0.19$ ) した。Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性は、Child-Pugh C 肝硬変症でのみ、低下 (N,  $0.284 \pm 0.018 \mu\text{mol mg protein/hr}$ ; A,  $0.256 \pm 0.020$ ; B,  $0.271 \pm 0.008$ ; C,  $0.195 \pm 0.014$ ) した。Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 活性は、肝硬変症患者と健常者の間で差はなかった (N,  $0.296 \pm 0.015 \mu\text{mol/mg protein/hr}$ ; A,  $0.255 \pm 0.022$ ; B,  $0.315 \pm 0.014$ ; C,  $0.292 \pm 0.022$ )。
- 6) AChE 活性および Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性は fluorescence polarization との間に有意な相関 ( $r=-0.652$ ,  $P<0.001$  および  $r=-0.381$ ,  $P<0.01$ ) がみられた。

#### 〔総括〕

肝硬変症は重症度にともなって、血漿の C/PL は上昇し、それと共に赤血球膜の C/PL は上昇した。この赤血球膜 C/PL は血漿 LCAT 活性と相関した。その結果、膜流動性の低下が起こり、この膜流動性の低下は赤血球膜の AChE 活性および Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性を低下させる可能性が示された。これらの結果より、ウイルス肝炎後の肝硬変症患者では、血漿の脂質組成の異常により諸臓器の細胞膜の脂質組成の異常をきたし、膜流動性の低下および膜酵素活性の変動をきたすことが示唆された。即ち、肝硬変症における諸臓器の機能障害の発生に、細胞膜の組成および機能異常が関与すると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、肝硬変症患者における、赤血球膜の脂質組成と膜流動性の変化ならびに膜酵素活性の変動について検討することにより、肝硬変症での細胞膜流動性の低下と諸臓器の機能障害との関連性を明らかにすることを目的としたものである。肝硬変症患者を Child-Pugh 分類により重症度を分類し、各群の血漿 lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) 活性、血漿の脂質組成、赤血球膜の脂質組成、膜流動性を比較し検討をおこなった。肝硬変症患者では、血漿 LCAT 活性は低下し、その結果、血漿 free cholesterol/phospholipid molar ratio (C/PL) と、赤血球膜 C/PL が上昇した。また、肝硬変症患者の赤血球膜流動性が低下していることが明らかになったが、これには先に述べた膜脂質組成の変化が主因であることが証明された。さらに肝硬変症では赤血球膜酵素の acetylcholinesterase (AChE) と Mg<sup>2+</sup>-ATPase の活性は低下したが、Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase の活性には変化がないことが示された。Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase は貫通型の膜蛋白であり、AChE は glycosyl-phosphatidylinositol を anchor として細胞膜の外側に結合する蛋白であることより、膜流動性の低下が酵素活性に及ぼす影響は、酵素の膜での在存様式の違いにより、異なる可能性が推測された。

本研究は、ウイルス肝炎後の肝硬変における諸臓器の機能障害に、細胞膜脂質組成の異常、および膜流動性の低下による膜機能異常が関与する可能性を示したものであり、肝硬変の病態を解明するうえでの意義は大きく、学位に値するものと考えられる。