

Title	Biotin Deficiency Decreases Ornithine Transcarbamylase Activity and mRNA in Rat Liver.
Author(s)	前田, 祐一
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40485
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	前 田 祐 一 <small>まえ だ ゆう いち</small>
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 7 4 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 12 月 4 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	Biotin Deficiency Decreases Ornithine Transcarbamylase Activity and mRNA in Rat Liver. (ビオチン欠乏ラットにおける肝オルニチントランスカルバミラーゼの活性および遺伝子発現の低下)
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】

ビオチンは糖新生、脂肪酸合成、アミノ酸代謝等生体内における重要な代謝に関わる key enzyme であるカルボキシラーゼ群 (pyruvate carboxylase, acetyl CoA carboxylase, etc) の補酵素である。肝硬変症患者ではビオチン欠乏症が存在することが知られているが、一方ではビオチンが欠乏することにより、様々な臨床症状を呈することが報告されている。その例としてビオチン欠乏と高アンモニア血症との関連が注目され、私共は肝硬変症患者にビオチンを投与することにより高アンモニア血症が改善することを見出している。しかし、ビオチン欠乏状態における高アンモニア血症の発生機序は未だ明らかでない。血中に存在するアンモニアの最終的な処理機構として、主に尿素サイクルによる尿素生成と glutamine synthetase による glutamine 生成があげられる。本研究はビオチン欠乏の尿素サイクルへの影響を検討するため、ビオチン欠乏ラットを作製し、尿素サイクル構成酵素の活性と遺伝子発現について検討することを目的とした。

【方 法】

1. 雄性 Wistar rat (B.W. 200 g) に avidin 25%含有資料 (欠乏食) を与え、ビオチン欠乏ラット (BD rat) を作製した。また欠乏食を与えたラットにビオチンを 1 mg/day 連日腹腔内投与したラットを補充群 (BS rat) とした。対照食を与えたラットを正常群 (N rat) とした。各群を 6 週間 pair fed で飼育し、20時間絶食の後腹部大動脈より採血し肝を摘出した。2. 血漿アンモニア値は奥田らの方法で測定し、血清ビオチン値は *Lactobacillus pluntarum* ATCC8014 を用いた bioassay 法により測定した。血中アミノ酸分析はニンヒドリン法にて測定した。3. ビオチン依存性酵素である Acetyl-CoA carboxylase (ACC) 活性は Alberts & Vagelos の方法で、尿素サイクル構成酵素活性は Schimke らの方法で測定した。4. rat ornithine transcarbamylase (OTC) cDNA を用いて northern hybridization を行った。5. 統計処理には Mann-Whitney の U 検定を用いた。

【成 績】

1. BD rat では血清ビオチン値は BS rat の 10% ($p < 0.001$) に、肝 ACC 活性は 56% ($p < 0.001$) に低下しており、

ビオチン欠乏状態であることが確認された。さらに BD rat の平均血漿アンモニア値は $92.8 \mu\text{mol/L}$ と BS rat に比し有意に上昇し ($p < 0.05$)、高アンモニア血症を呈した。2. 血漿アミノ酸分析において、BD rat では BS rat に比し尿素サイクルの中間代謝産物のなかで OTC の基質である ornithine ($p < 0.02$) のみが有意に上昇した。また glutamine synthetase の生成物である glutamine ($p < 0.05$) が有意に上昇した。なお Fisher 比については変動を認めなかった。3. 尿素サイクル構成酵素のうち BD rat では、BS rat に比し OTC 活性が有意な低下を認めたが (154.8 ± 3.8 vs 110.2 ± 5.5 Unit/mg liver protein, $p < 0.001$)、その他の酵素活性については有意な変動は認めなかった。4. BD rat では BS rat に比し肝 OTC mRNA の発現が約 60% と有意に低下していた。5. N rat と BS rat の間にはこれらの値に有意な差は認められず、高アンモニア血症、肝 OTC の活性と mRNA の低下はいずれもビオチン欠乏により出現し、ビオチン補充により回復することを確認した。

【総括】

本研究により、ビオチン欠乏において、肝尿素サイクル構成酵素のひとつである OTC の活性と遺伝子発現が共に低下していることが明らかとなった。このことよりビオチンによる OTC 酵素合成の制御が存在し、ビオチン欠乏状態における高アンモニア血症の原因となりうる可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

肝硬変症患者における合併症の一つに高アンモニア血症がある。高アンモニア血症は肝性脳症を発症し、重症化することが多く、その治療は臨床上極めて重要である。一方ビオチン欠乏状態においても高アンモニア血症を発症する。さらに肝硬変症においては血中のビオチン濃度が低下していることが知られている。著者らは高アンモニア血症を合併した肝硬変症症例に対してビオチンを投与することにより高アンモニア血症が改善することを既に見出している。しかし、ビオチン欠乏状態において、高アンモニア血症が発症する機序については未だ解明されていない。

本研究は、ビオチン欠乏状態において、高アンモニア血症を発症する機序として、尿素サイクルにおける Ornithine transcarbamylase (OTC) 酵素の活性と遺伝子発現レベルが共に低下していることを明らかにした。また肝硬変症患者においてもビオチンの低下が認められることから、ビオチン欠乏による OTC 酵素活性の低下に基づく高アンモニア血症発症の機序が存在する可能性が示された。

これらの成績はビオチン欠乏状態における高アンモニア血症発症の機序を明らかにした最初の知見であり、肝硬変症において高アンモニア血症を発症する成因にビオチン欠乏という新しい観点を示したことは肝硬変症の病態解明及び治療の開発に有意義であり、学位の授与に値するものと考えられる。