

## 黄疸障害肝における組織ポリアミンの動態

### —ラット胆管閉塞および閉塞解除後の肝切除再生肝の検討—

名古屋大学第1外科 (主任: 塩野谷恵彦教授)

浅井 雅 則

#### THE DYNAMICS OF POLYAMINES IN REGENERATING RAT LIVER AFTER BILIARY OBSTRUCTION AND RELEASING THE OBSTRUCTION

Masanori ASAI

The First Department of Surgery, Nagoya University School of Medicine

(Director: Prof. Shigehiko Shionoya)

ラットを用い、黄疸群、黄疸軽減群(以下減黄群)、正常肝切除群、黄疸肝切除群、減黄肝切除群を作製し、組織ポリアミンと血清 GOT, GPT の動態を比較検討した。黄疸群の組織プトレシン (以下 Put), スベルミジン (以下 Spd) は正常肝切除群と同様の経時的変化を示した。両群の組織 Put の変化は血清 GOT, GPT とよく相応していた。黄疸肝切除群のごとき肝障害が重篤になると血清 GOT, GPT は障害に比例して増加しなかったが、組織 Put は正常肝切除群に比べ著明な増加と高値の持続を示した。減黄肝切除群の組織 Put は正常肝切除群のそれに近づいた。組織 Put の動態は、再生より障害の程度と比例したことより障害の指標になると考えられた。また障害に対する代償的保護因子の働きを持つと考えられた。

索引用語: 肝障害とポリアミン, 肝障害とプトレシン, 肝再生, 閉塞性黄疸, 減黄

#### I. 緒 言

閉塞性黄疸の患者の手術は極めて成績が不良であった。近年胆道癌などに、経皮経肝胆道ドレナージ (以下 PTCD<sup>1)~3)</sup>)により黄疸軽減した後に、腫瘍部分を含めた広範囲肝切除が比較的安全に施行されるようになってきた。

正常肝部分切除後の残存肝の肝再生に関する研究は古くより基礎、臨床の両面から多くの研究がなされてきた。しかし臨床的にしばしば遭遇する黄疸肝障害下での肝切除および減黄後の肝切除再生肝に関する基礎的な研究はほとんど行われていない。

ラット肝部分切除後の再生肝でポリアミンとくに Put, Spd が早期より増加することが報告されてきた。また種々の肝毒性をもつ薬物による障害肝でも組織 Put が著明に増加することが報告されてきた。

今回再生および障害で増加する Put に着目し、黄疸障害肝での肝切除、黄疸軽減後の肝切除という臨床に即した実験モデルをラットにて作製し、各状態での組織ポリアミンを比較検討した。とくに、組織 Put の障害肝および再生肝での役割、意義につき検討した。

#### II. 実験材料および方法

##### 1. 実験動物およびその管理

生後3~4カ月齢、体重300~400gの雄性呑竜ラット(中島実験動物より購入)を用いた。オリエンタル製固型飼料を水と共に自由に摂取させた。ラットは各群n=5~6とし、実験に供する前1カ月間空調室で飼育した。

##### 2. 実験方法

以下の各群に分けて検索した。

##### (1) 黄疸群

ラットを無麻酔下に正中線切開開腹後、左主膵管が肝外胆管に合流する部より肝側の肝外胆管に外径1mm 内径0.5mm (八光電機製作所製) のビニール管を

<1985年7月10日受理> 別刷請求先: 浅井 雅則  
〒466 名古屋市昭和区鶴舞町65 名古屋大学医学部  
第1外科

挿入固定し、他端は結紮し、皮下を通して頭頂部やや左耳よりの皮下に固定し、胆管閉塞黄疸群を作製した。胆管閉塞後各12時間、1, 2, 3日、1, 2, 3, 4週間に断頭屠殺して、採血採肝を行った。

#### (2) 減黄群

胆管閉塞1週間後に、頭頂部皮下のビニール管の結紮を解放し外胆汁瘻とし減黄した。減黄6, 24, 72時間後断頭屠殺して採血採肝を行った。

#### (3) 肝切除群

##### (i) 正常肝切除群

ラットを無麻酔下に正中線切開復し、Higgins & Anderson法<sup>4)</sup>に従って左葉および中葉を出来るだけ根部で結紮し約68%の肝を切除した。肝切除は午前9時から11時の間に行った。肝切除後各4, 8, 12, 16, 20, 24時間、2, 3, 4, 7, 10, 14日に断頭屠殺して採血採肝を行った。

##### (ii) 黄疸肝切除群

胆管閉塞1週間後、無麻酔下に前回と同じ手術創を切開復し、68%肝切除を行った。

##### (iii) 減黄肝切除群

減黄6, 24, 72時間の各群に、同様に68%肝切除を行った。(ii)(iii)の両群は、肝切除後各4, 8, 12, 16, 20, 24時間後断頭屠殺し、採血採肝を行った。

#### (4) 胆汁採取群

黄疸群と同様にビニール管を挿入固定し、他端にビニール袋を装着した。袋を腹腔内に留置後、68%肝切除を施行した。代謝ケージに移し、12時間蓄尿後断頭屠殺し採血した。胆汁は開腹し、ビニール袋より採取した。対照群は、肝切除を加えず腹腔内にビニール袋を留置し、12時間後断頭屠殺し採血採尿および胆汁を採取した。

### 3. 検索項目

#### (1) 再生率の測定

再生率はFishback<sup>5)</sup>による計算式すなわち残存肝重量をHiggins & Anderson<sup>4)</sup>による推定全肝重量で除した値(%)を用いた。

#### (2) 血液生化学検査

血清総ビリルビンはMichaësson<sup>6)</sup>変法による、アルカリアゾビリルビンブルー比色定量法にて測定した。血清Glutamic oxaloacetic transaminase(以下GOT)、Glutamic pyruvic transaminase(以下GPT)はWróblewski-Karmen<sup>7)</sup>法に準じ、日立706D自動分析装置を用いて測定した。

#### (3) 肝組織DNA, RNA量の測定

Schmidt-Thannhauser<sup>8)</sup>法に準じて、ラット肝組織より核酸を抽出した。DNAの定量は、ジフェニルアミン<sup>9)</sup>法により、RNAの定量はオルシノール法<sup>9)</sup>により測定した。

#### (4) 組織ポリアミンの測定

断頭屠殺後直ちに肝を摘出し、生理食塩水で十分洗滌し、血液成分を出来るだけ除去した。肝重量測定後、肝湿重量1gに精製水を加え、氷冷下にPotterホモゲナイザーにて、10%(W/V)のホモジネート液を作製した。ホモジネート液2ml(肝湿重量200mg相当)に10%過塩素酸(以下PCA)3mlを加え3,500rpm15分間遠沈して除蛋白を行った。沈澱物にさらに10%PCA3mlで1回、5%PCA3mlで1回の計3回同様の操作を行い、その上清を集め酸可溶性分画とした。前処理として上清にNaOHを加えpH6.5に調整し、松本ら<sup>10)11)</sup>の方法に準じて陽イオン交換樹脂AmberliteCG50(オルガノ社製、タイプ1)を用いたミニカラムで夾雑物質を除去した。ポリアミンの分離定量には島津高速液体クロマトグラフLC5Aで藤田ら<sup>12)</sup>の方法に準じてイオン交換樹脂CK-10U(三菱化成社製)を充填した分離カラムを用いたポストカラム法にて行った。分析所要時間は約20分であり、2pmolより200pmolまで良好な検量線が得られた。肝ホモジネート液にプトレシン(Put)-2HCL、カダベリン(以下Cad)-2HCL、スペルミジン(Spd)-3HCL、スペルミン(以下Spm)-4HCL(半井社製)を各200nmol添加し、前記の方法で測定したところ、おのおの95%、90%、96%、98%と良好な回収率を得た(表1)。

#### (5) 胆汁、血清、尿中ポリアミンの測定

胆汁採取群より得られた胆汁、血清各2mlに10%PCA2mlおよび5%PCA2mlで2回除蛋白処理した。その上清に濃塩酸1mlを加え、110°Cで6時間加水分解した。尿は尿量計測後尿2mlに濃塩酸を1ml加え同様に加水分解した。加水分解後、上清にNaOHを加え、pH6.5に調整し、松本ら<sup>10)11)</sup>の方法に準じAmberliteCG50を用いたマイクロカラムで夾雑物質を除去後、組織と同様に高速液体クロマトグラフで分離定量した。胆汁、血清、尿におけるPut, Spd, Spmの回収率はいずれも90%以上の良好な結果を得た。

### III. 成績

#### (1) 黄疸群

##### (i) 血清総ビリルビン値の変化

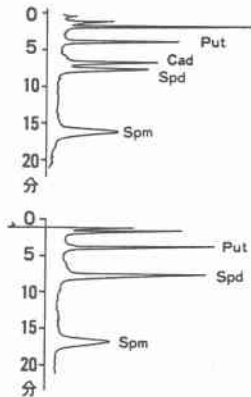
胆管閉塞12時間後に $5.0 \pm 0.9$ mg/dlと高値を示し、1週間後 $9.3 \pm 1.3$ mg/dlとピーク値を示した。胆管閉

表1 測定条件

装置：島津高速液体クロマトグラフ LC-5A  
 カラム：CK-10U  
 移動相：0.2N クエン酸ナトリウム  
 2.5N 塩化ナトリウム  
 反応試薬：o-フタルアルデヒド  
 2-メルカプトエタノール  
 検出器：島津蛍光計 FLD-2A

1) Standard

Put 40 pmol  
 Cad 40 pmol  
 Spd 40 pmol  
 Spm 80 pmol



2) 正常肝切除後  
 12時間

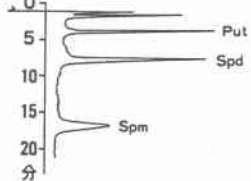
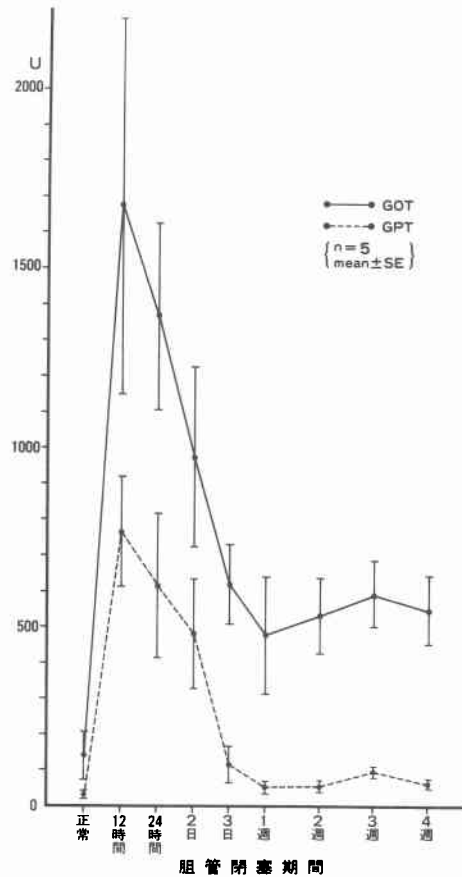


図2 黄疸群の血清 GOT, GPT

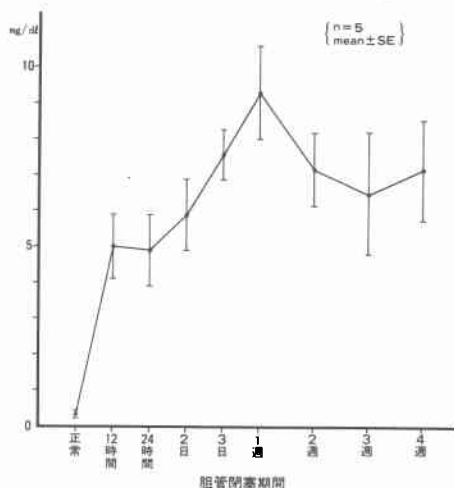


塞期間が長くなっても増加せず、むしろ減少する傾向がみられた (図1)。

(ii) 血清 GOT, GPT の変化

GOT は胆管閉塞12時間後に一過性に1,678±633U と著明なピーク値を示した。その後1週間目までは減少するがその後再び3週目まで漸増した。GPT も12時間後768±150U とピーク値を示し、GOT と同様の変化を示した (図2)。

図1 黄疸群の血清総ビリルビン値



(iii) 組織ポリアミンの変化

Put は胆管閉塞12時間後に一過性に478±47nmol/g 湿重量と正常の約50倍のピーク値を示すが、24時間後には90±10nmol/g 湿重量と減少した。しかし4週間後も56±8nmol/g 湿重量と正常の5倍の高値を持続した。Spd は12時間後減少するが、その後著明な増加を示し、3日後には1,339±90nmol/g 湿重量とピークを示し、その後漸減した。Spm は2日まで漸減し、その後増加し、1週間後に986±15nmol/g 湿重量とピーク値を示した (図3)。

(2) 減黄群

(i) 血清総ビリルビン値の変化

1週間胆管閉塞後減黄した。減黄6時間で2.7±0.4 mg/dl と著明に減少した。減黄72時間で0.6±0.2mg/dl とほぼ正常値に復した (図4)。

(ii) 血清 GOT, GPT の変化

GOT は1週間胆管閉塞で、476±168U と増加する

図3 黄疸群の組織ポリアミン

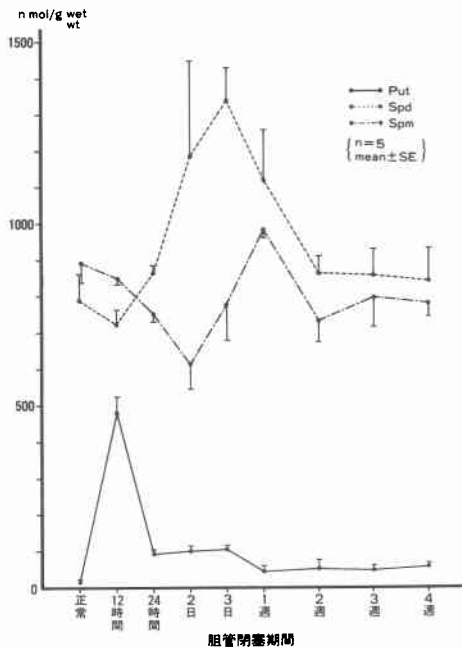
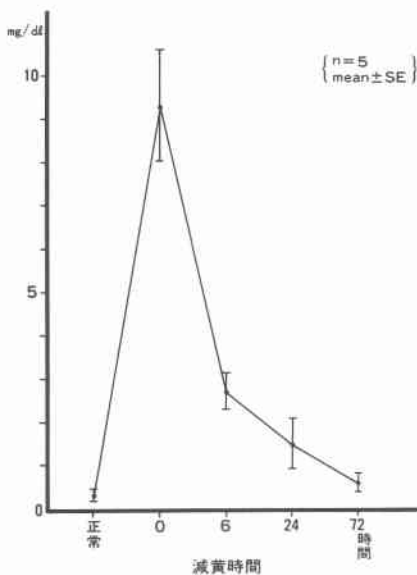


図4 減黄群の血清総ビリルビン値

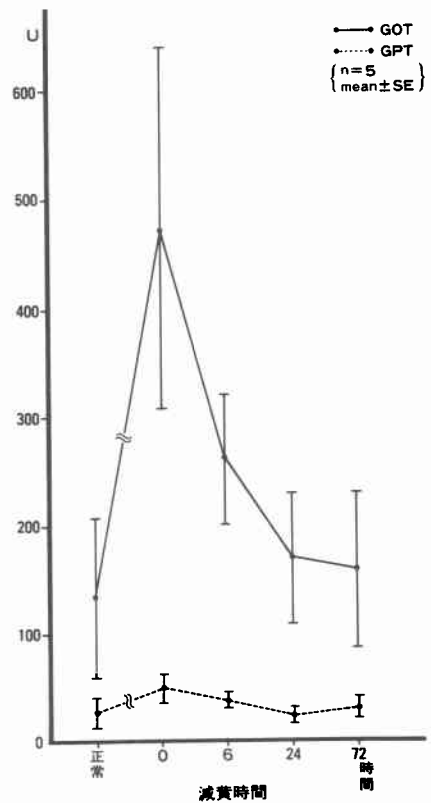


が減黄時間とともに著明に減少した。GPTは1週間胆管閉塞により $48 \pm 13$ Uと増加し、減黄により減少した(図5)。

(iii) 組織ポリアミンの変化

Put, Spdともに減黄期間に比例して減少し、減黄72

図5 減黄群の血清 GOT, GPT



時間後には正常値に復した(図6)。

(3) 正常肝切除群

(i) 肝再生率の変化

肝切除後24時間より漸増し、14日後にはもとの重量のほぼ90%に復した(図7)

(ii) 血清 GOT, GPT の変化

GOTは肝切除後急激に増加し、12時間後には、 $2,019 \pm 507$ Uとピーク値を示した。以後減少し14日後には $170 \pm 47$ Uとほぼ正常値に回復した。GPTも12時間後には $382 \pm 128$ Uとピーク値を示し、14日後には同様にほぼ正常値に回復した(図8)

(iii) 組織 DNA, RNA 量の変化

DNA量は肝切除後24時間までは漸減し、その後増加し、4日後には $2.00 \pm 0.23$ mg/g湿重量となり、それ以後やや減少する傾向がみられた。RNA量は、肝切除前 $5.90 \pm 1.22$ mg/g湿重量であり肝切除後24時間までは大きな変動はないが3日後には急速に増加し $9.76 \pm 0.67$ mg/g湿重量とピーク値を示した。以後減少し14日後にはほぼ正常値に復した(図9)

図6 減黄群の組織ポリアミン

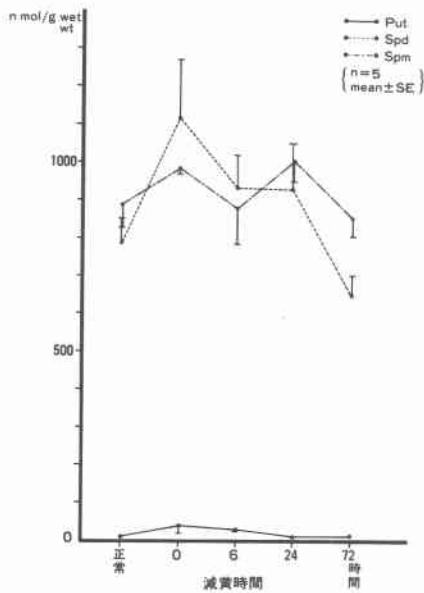


図8 正常肝切除群の血清 GOT, GPT

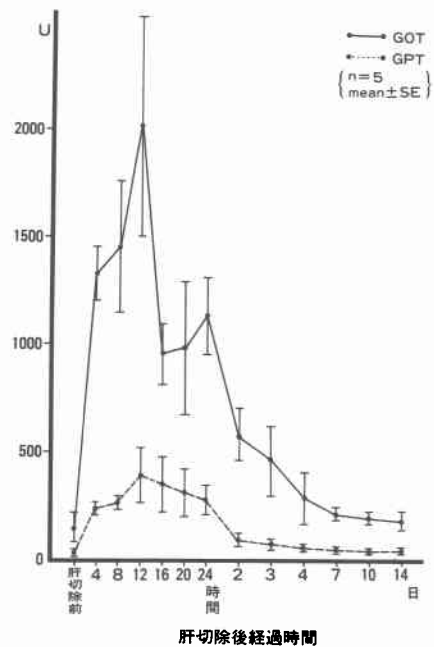


図7 正常肝切除群の肝再生率の変化

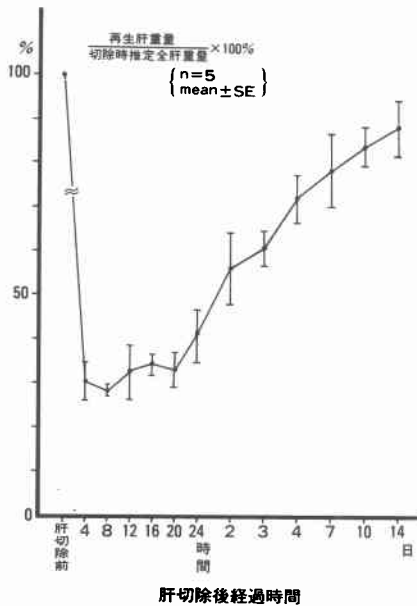
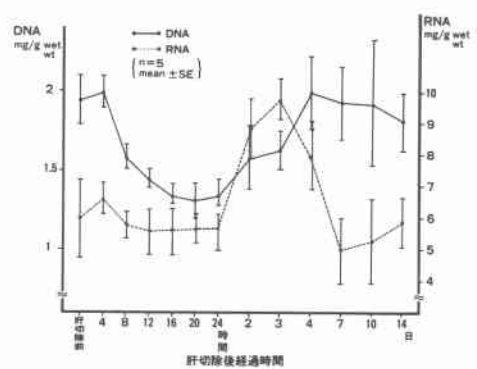


図9 正常肝切除群のDNA, RNA量の変化



日後には、ほぼ正常値に復した。Spd は肝切除前790±66nmol/g 湿重量で肝切除後12時間までは減少するが以後急速に増加し、3日後には1,817±349nmol/g 湿重量と切除前の約2.3倍に増加した。3日後は漸減し14日後には正常値に復した。Spm は肝切除前892±57 nmol/g 湿重量で肝切除後一定の傾向を示さなかった(図10)

(4) 黄疸肝切除群, 減黄肝切除群および正常肝切除群の比較検討

(i) 各肝切除群の血清総ビリルビン値の変化  
減黄期間が長い群ほど、肝切除後の血清総ビリルビ

(iv) 組織ポリアミンの変化

肝切除前の組織 Put は10±7nmol/g 湿重量と極めて低値であるが肝切除後4時間より急速に増加し12時間後には564±136nmol/g 湿重量とピーク値を示した。これは肝切除前の50倍以上であった。以後急速に減少し24時間後には、60±21nmol/g 湿重量となり14

図10 正常肝切除群の組織ポリアミン

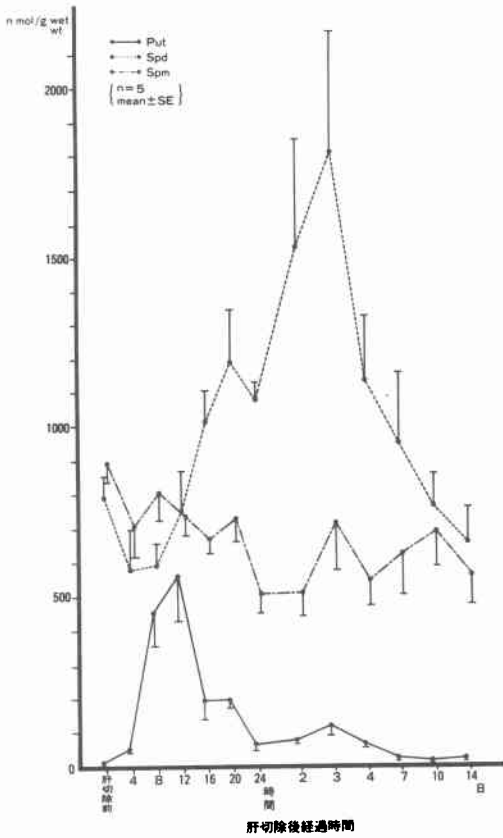
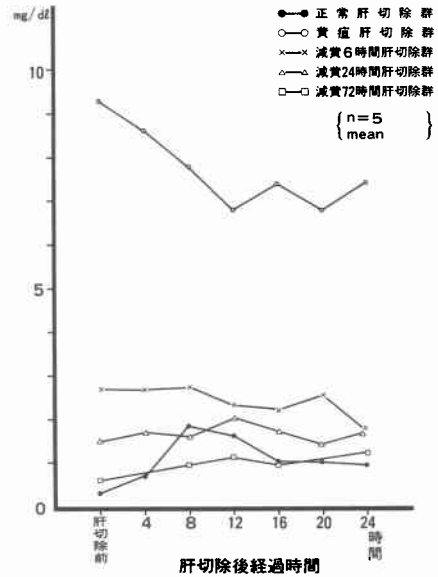


図11 各肝切除群の血清総ビリルビン値

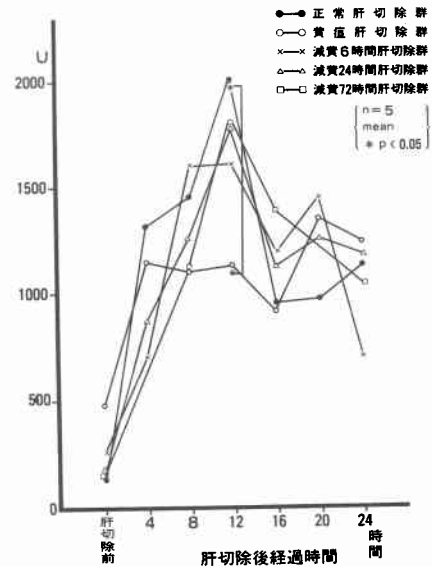


ン値も低かった (図11).

(ii) 各肝切除群の血清 GOT, GPT の変化

正常肝切除群, 減黄肝切除群の血清 GOT は肝切除12時間後にすべてピーク値を示した. 正常肝切除群がもっともピーク値が高く, 減黄時間が長く肝機能が回復した群ほどピークが高値となる傾向がみられた (図12). 黄疸肝切除群の血清 GOT は正常肝切除群に比べ肝切除12時間後の値は有意に低かった(図13). 各肝切除群の血清 GPT の変化は血清 GOT と同様の变化を示した.

図12 各肝切除群の血清 GOT



(iii) 黄疸肝切除群の組織ポリアミンの変化

Put は肝切除 4 時間以後急速に増加し, 12時間後には852±197nmol/g 湿重量とピーク値を示した. 24時間後も676±192nmol/g 湿重量と高値を持続遷延した. Spd は肝切除により急速に減少し, 12時間後620±121nmol/g 湿重量と最低値を示したが以後急速に増加した. Spm は一定の傾向を示さなかった (図14).

Put は肝切除12時間後826±139nmol/g 湿重量とピーク値を示し, その後減少し24時間後には273±92 nmol/g 湿重量となった. Spd は12時間までは徐々に減少し, 以後急速に増加する傾向がみられた. Spm は24時間までわずかに減少する傾向がみられた (図15).

(iv) 減黄 6 時間肝切除群の組織ポリアミンの変化

(v) 減黄24時間肝切除群の組織ポリアミンの変化  
Put は肝切除12時間後に660±184nmol/g 湿重量とピークを示し, 以後減少し24時間後には248±48

図13 各肝切除群の血清GPT

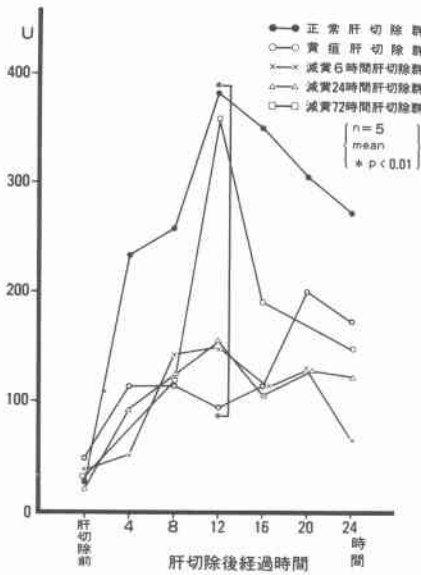


図15 減黄6時間肝切除群の組織ポリアミン

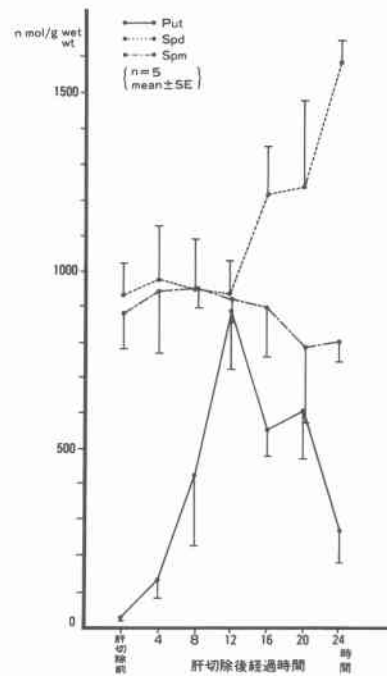


図14 黄疸肝切除群の組織ポリアミン

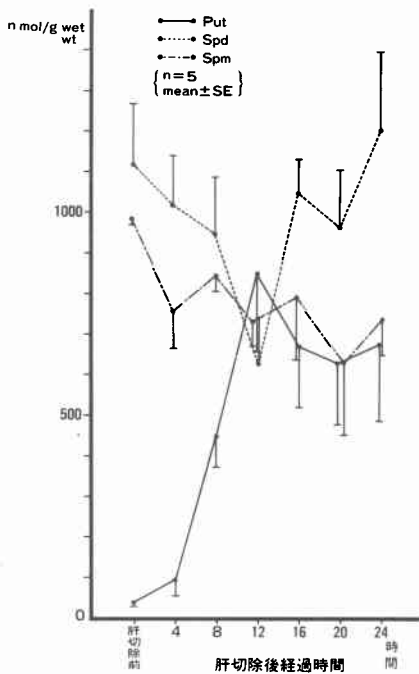
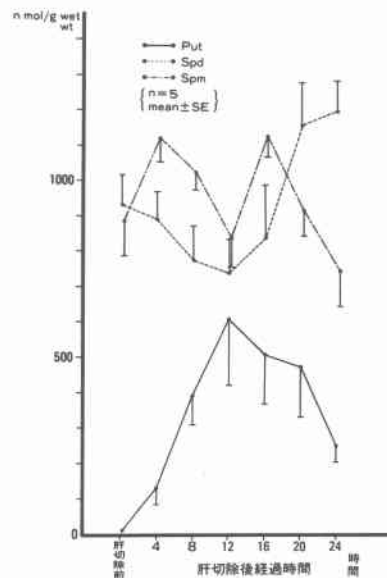


図16 減黄24時間肝切除群の組織ポリアミン



nmol±g 湿重量となった。Spdは12時間後まで漸減し、以後増加した(図16)。

(vi) 減黄72時間肝切除群の組織ポリアミンの変化

Putは肝切除12時間後522±93nmol/g 湿重量とピーク値を示し、以後24時間後には半減した。Spdは8時

間まで漸減し、以後増加した(図17)。

(vii) 各肝切除群のPutの動態

肝切除後4時間から8時間までは、各群に大きな差は認められないが12時間後には、黄疸肝切除群は正常

図17 減黄72時間肝切除群の組織ポリアミン

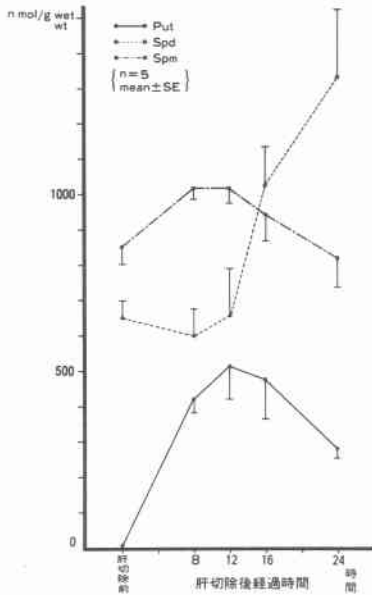
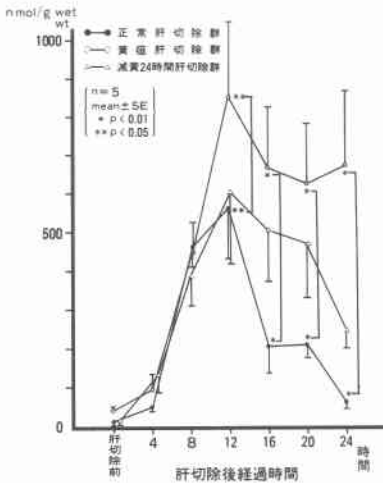


図18 各肝切除群の Put の動態



肝切除群に比べピーク値が有意に高値を示し、以後24時間まで有意の差をもって高値を持続した。正常肝切除群は12時間以後は著明な減少傾向が認められた。減黄24時間肝切除群のピーク値は正常肝切除群と大差ないが24時間までの減少はゆるやかであった(図18)。

(5) 胆汁採取群

(i) 正常肝切除群および対照群の血清、胆汁、尿ポリアミンの変化

正常肝切除群の術後12時間で採取した血清、胆汁、

表2 血清、胆汁中、尿中ポリアミンの比較

|    |        | (n=6 mean±SE) |         |         |
|----|--------|---------------|---------|---------|
|    |        | Put           | Spd     | Spm     |
| 血清 | 正常肝切除群 | 1.6±0.5       | 2.4±0.8 | 0.5±0.2 |
|    | 対照群    | 1.6±0.6       | 1.8±0.6 | 0.3±0.1 |
| 胆汁 | 正常肝切除群 | 0.8±0.2       | 1.0±0.4 | 0.4±0.2 |
|    | 対照群    | 1.0±0.5       | 0.7±0.2 | 0.3±0.1 |
| 尿  | 正常肝切除群 | 123±26        | 129±45  | 30±10   |
|    | 対照群    | 120±45        | 108±25  | 21±7    |

尿の Put 濃度は各1.6±0.5nmol/ml, 0.8±0.2nmol/ml, 123±26nmol/mlであった。胆汁 Put 濃度は血清の約1/2, 尿の約1/150の濃度であった。血清、胆汁、尿の Spd 濃度は各2.4±0.8nmol/ml, 1.0±0.4nmol/ml, 129±45nmol/mlであった。胆汁 Spd 濃度は血清の1/2以下であり、尿の約1/120の濃度であった。血清、胆汁、尿の Spm 濃度は各0.5±0.2nmol/ml 0.4±0.2 nmol/ml 30±10nmol/mlであった。

肝切除を負荷しない対照群の血清、胆汁、尿ポリアミンは表2のごとく、胆汁 Put, Spd 濃度は尿のそのの1/100以下であった。肝切除群と対照群との間では、血清、胆汁、尿いずれも大きな差異を認めなかった。

IV. 考 察

Dykstra<sup>13)</sup>, Rainaら<sup>14)</sup>により肝部分切除後早期より Put, Spdが増加することが報告されて以来、正常ラット肝部分切除後の再生肝を用いたポリアミンの研究は数多く報告されている。しかし黄疸障害肝はもとより減黄による障害軽減後の肝部分切除再生肝の組織ポリアミンの変化をみた報告はない。本実験で指標として用いたポリアミンは生理活性アミンであり、1級又は2級アミノ基を2個以上有する直鎖の脂肪族炭化水素化合物である。ポリアミンの中の Put, Spd, Spm, Cadの4つのポリアミンが生体では、ほとんどを占めている。最近その働きとして細胞増殖の関与、DNA, RNA 蛋白合成との関連、種々の酵素活性の調節など関係していることがわかってきた。

本実験で正常ラット肝部分切除後、再生肝の組織 Put 量は12時間後にピーク値を示し、以後急速に減少した。組織 Spd 量はやや遅れて3日後にピーク値を示し以後減少した。Putの経時変化は血清 GOT, GPTのそれとよく相応し、Spdの経時変化は組織 RNA 量のそれとよく相応していた。Rainaら<sup>14)</sup>も再生肝において組織 Spd 量が組織 RNA 量とよく相関することより、SpdがRNA合成の調節因子として働いていると述べている。



胆管閉塞により、血清総ビリルビン値は1週間後にピークを示すが以後減少した。Miyata<sup>15)</sup>の成績も同様であり閉塞期間と血清総ビリルビン値とは相関しないと考えられた。

組織 Put 量は胆管閉塞12時間後著明に増加し正常の約50倍のピークに達した。24時間後には著明に減少したが4週間後も5倍の高値を持続していた。この組織 Put の経時的变化は血清 GOT, GPT のそれとよく類似していた。また Spd は3日後、Spm は1週間後ピークを示した。この黄疸群の組織 Put, Spd の経時的变化のパターンは正常肝切除群のそれとよく類似しており、黄疸による障害肝でも肝部分切除後の再生肝と同様の修復機序が働いているものと考えられた。しかし正常肝切除群は14日後には肝重量がもとにもどりはば再生が完了したと思われる時点で組織 Put は正常に復したが、黄疸群では胆管閉塞による障害が続く間高値を持続していた。

減黄群における血清総ビリルビン値は、1週間胆管閉塞後、減黄72時間でほぼ正常値に復した。このことより本実験モデルが減黄効果にすぐれたよい方法であると考えられた。組織 Put, Spd 量は減黄時間とともに減少し、72時間後にはほぼ正常値に復した。血清 GOT, GPT が胆管閉塞解除後経時的に肝機能の改善に伴って低下するのとよく類似していた。

黄疸肝切除群は肝部分切除後24時間ではほぼ40%、48時間後では、ほぼ全例死亡することより、残存肝の予備力はなく肝障害も極めて重篤であると考えられた。もっとも肝障害の強い黄疸肝切除群の血清 GOT, GPT は、正常肝切除群がピークを示す12時間後にもあまり増加しなかった。減黄肝切除群の血清 GOT, GPT は12時間後にピークを示し減黄が十分な程ピーク値は正常肝切除群に近づいて増加した。このことは肝細胞の障害が高度な肝硬変<sup>16)</sup>、肝性昏睡時には肝細胞は疲弊し、むしろこれらの酵素の逸脱は少なくなるのと同様の変化と考えられた。組織 Put 量は肝障害がもっとも強い黄疸肝切除群のピーク値がもっとも高かった。また黄疸肝切除群の Put 量は正常肝切除群に比べ有意差をもって高値を持続した。減黄24時間肝切除群では、黄疸肝切除群に比べピーク値の低下とゆるやかな減少を示し正常肝切除群の Put のパターンに近づいたが24時間後の値は、なお高値であった。以上より肝切除後再生肝の Put 動態は残存肝の障害の程度に応じた特徴的なパターンを示した。

黄疸群、黄疸肝切除群の組織 Put の著明な増加の原

因は、胆汁採取群の結果より Put, Spd の胆汁への排泄が尿に比べてはるかに少なく、また胆管閉塞期間が長くなっても増加しないことより胆管閉塞による胆汁うっ滞由来のものではないと考えられた。また胆管閉塞による胆管上皮の増生による影響も考えられた。しかし胆管上皮の増生は閉塞4週以後に、著明になるとの報告<sup>17)</sup>があり Put の増加と時間的なずれがみられたことより、黄疸群、黄疸肝切除群の Put の増加は肝細胞由来の組織 Put の増加と考えられた。

この Put の増加には2つの経路が考えられる。1つはオルニチンデカルボキシラーゼ(以下 ODC)によるオルニチンから Put への経路である。従来より肝部分切除<sup>18)</sup>および肝障害をひきおこす薬物<sup>19)</sup>の投与により ODC が増加すると云われている。胆管閉塞により Put が著明に増加することより閉塞性黄疸は ODC 活性上昇因子と考えられた。最近明らかにされてきたもう1つの経路は Spd から Put への経路である。本実験において黄疸群、各肝切除群で術後12時間までの早い時期に組織 Put 量は急速に増加し、反対に組織 Spd 量は時を同じくして急速な減少を示したことより Spd から Put への低位のポリアミン生成の可能性が考えられた。Siimes<sup>20)</sup>はラット肝部分切除後の再生肝で、Hölltä<sup>19)</sup>はラット腹腔内に CCl<sub>4</sub> を投与した障害肝で早期に Spd より Put への生成が促進することを認めている。Pegg<sup>21)</sup>、Matsui ら<sup>22)</sup>は生成経路として Spd よりスペルミジン-N<sup>1</sup>-アセチルトランスフェラーゼの働きにより N<sup>1</sup>-アセチルスペルミジンがつくられ、さらにポリアミノキナーゼの働きで Put が生成されると説明している。

黄疸肝切除群のごとき障害が高度になると組織 Put が増加することは興味のあるところである。肝部分切除後の再生肝では、細胞周期でいう DNA 合成前の G<sub>1</sub> 期に種々の酵素活性<sup>23)</sup>が認められる。肝切除3~4時間後には、Put 合成の律速酵素である ODC が増加し、24時間後にはチミジンキナーゼ活性が増加し、24時間後には<sup>3</sup>H-チミジンの DNA への取り込みが増加してくと報告されている。ODC 阻害剤<sup>24)25)</sup>を用いた Put 合成の阻害が DNA 合成をも阻害することにより Put が DNA 合成に必要であるとの報告は多いが、また反対に DNA 合成を伴わない Put 合成の増加の報告<sup>26)</sup>もあり put 合成と DNA 合成との関係はまだ十分解明されていない。向山<sup>27)</sup>は同じ実験系を用いて<sup>3</sup>H-チミジンを投与し、DNA 合成をラジオオートグラフィーで検索し、<sup>3</sup>H-チミジン取り込み細胞の比率を示した。い

づれの群も DNA 合成ピークは肝切除24時間後にみられ、黄疸肝切除群ではほとんど<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みはみられず、減黄時間に比例して DNA 合成も増加してくると報告している。黄疸にさらに肝切除が加わるような障害肝の肝再生では、DNA 合成が強く障害されるが、Put の生合成は亢進していることより、G<sub>1</sub> 期の種々の反応の中で Put 合成の増加は DNA 合成の増加には結びつかなかった。むしろ Put の高値の持続は肝再生が不良であると考えられる結果を得た。

一方、肝部分切除以外に CCl<sub>4</sub><sup>19)</sup>、チオアセトアシド<sup>20)</sup>など種々の肝毒性の薬物による障害肝で ODC 活性が増加し Put が増加する報告は多い。同様に黒川<sup>29)</sup>、Milano<sup>30)</sup>はラットへの発癌剤投与により投与直後より肝組織 Put の持続的な増加を認めている。他の臓器の障害でも同様の変化が認められる。Selmec<sup>31)</sup>はラット片側の尿管結紮により結紮側の腎組織 Put の著明な増加を、Ekström<sup>32)</sup>はラット顎下腺、舌下腺の導管を結紮し結紮側の腺組織 Put の増加を報告している。Daikuhara<sup>33)</sup>は D-ガラクトサミン投与による実験的肝炎をつくり、障害のもっとも強い時期に ODC、Put が増加し血清 GOT、GPT の変化とよく相関したと報告している。本実験でも、黄疸群、正常肝切除群の組織 Put の動態は血清 GOT、GPT による肝障害の程度と密接に関係していると思われた。しかし黄疸肝切除群のごとき肝障害が高度な場合、血清 GOT、GPT はあまり増加せず肝障害の程度の指標にならなかった。しかし組織 Put 量は肝障害が高度な場合は高値を示し、減黄により障害が取り除かれると低下することより肝障害の程度に応じて変化しており、肝障害の程度を知る上で指標になると考えられた。Desser<sup>34)</sup>は肝不全の患者の血漿 Put が増加することを報告した。これは肝組織内の Put が血漿に反映されていると考えられ、臨床的にも肝障害と血漿 Put とが相関していると考えられた。

Daikuhara<sup>33)</sup>は Put 投与により D-ガラクトサミンによる肝炎の障害が病理学的、生化学的に改善したことより、Put が肝障害治癒過程に重要な働きをしていると述べている。これらを考え合わせると、肝障害時の組織 Put の増加は肝障害の程度の指標であるとともに、肝障害を軽減しようとする合目的な代償的保護因子としての働きを持つ可能性が示唆された。

## V. 結 語

呑竜ラットに黄疸群、減黄群、正常肝切除群、黄疸肝切除群、減黄肝切除群を作製しそれぞれにおける組

織ポリアミンと血清 GOT、GPT の動態を比較検討した。

(1) 胆汁中の Put、Spd 濃度は尿中に比べ極めて低かった。その主な排泄経路は尿路によると考えられた。

(2) 胆管閉塞により肝組織 Put 量は12時間後著明に増加し、閉塞による肝障害が続く間高値を持続した。組織 Put の変化は血清 GOT、GPT の変化とよく相応した。

(3) 減黄により肝障害が取り除かれると、肝組織、Put、Spd 量は減少し、血清 GOT、GPT の変化とよく相応した。

(4) 黄疸肝切除群のごとき肝障害が重篤な時の再生肝では、Put は増加し、減黄肝切除群のごとき肝障害が軽減された後の再生肝では Put は減少した。

(5) 以上の結果から組織 Put は肝障害の程度と比例した増減を示し、障害の程度の指標になると考えられた。また障害に対する代償的保護因子の働きを持つ可能性が示唆された。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜りました本学第1外科学教室塩野谷恵彦教授に深甚なる感謝の意を表します。また終始御指導をいただいた松本隆利先生、二村雄次講師、浜松医科大学法医学教室鈴木修助教授、本学第1生化学教室永津俊治教授に深く感謝の意を表します。あわせて御協力、御援助をいただいた腫瘍研究室の諸先生方に厚くお礼申し上げます。

なお本稿の要旨は第21回日本消化器外科学会総会(1983年2月名古屋)、第22回日本消化器外科学会総会(1983年6月奈良)、第70回、日本消化器病学会総会(1984年3月東京)、Polyamine: Basic and Clinical Aspects, A Satellite Symposium of the 3rd International Congress on Cell Biology (1984 August Gifu) において発表した。

## 文 献

- 1) Kaplan AA, Traitz JJ, Mitchel SD et al: Percutaneous transhepatic cholangiography. *Ann Inter Med* 54: 856-869, 1961
- 2) 高田忠敬: 影像下直達法による経皮的胆管ドレナージの研究. *日消外会誌* 9: 791-803, 1976
- 3) 二村雄次, 早川直和, 弥政洋太郎: 経皮経肝胆道内視鏡. *胃と腸* 16: 681-689, 1981
- 4) Higgins GM, Anderson RM: Experimental pathology of the liver. *Arch Pathol* 12: 186-202, 1931
- 5) Fishback FC: A morphologic study of regeneration of the liver after partial removal. *Arch Pathol* 7: 955-977, 1929
- 6) Michaëlson M: Bilirubin determination in serum and urine. Studies on diazo methods and

- a new copper-azo pigment method. *Scand J Clin Lab Invest* 13 : 1—80, 1961
- 7) LaDue JS, Wróblewski F, Karmen A: Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction. *Science* 120 : 497—499, 1954
  - 8) Schmidt G, Thannhauser SJ: A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissues. *J Biol Chem* 161 : 83—89, 1945
  - 9) Schneider WC: Phosphorus compounds in animal tissues. *J Biol Chem* 161 : 293—303, 1945
  - 10) Matsumoto T, Suzuki O, Nimura Y: A fluorometric assay for total diamines in human urine using human placental diamine oxidase. *Clin Chim Acta* 112 : 141—148, 1981
  - 11) Matsumoto T, Suzuki O, Nimura Y: A new enzymatic assay for total diamines and polyamines in human urine of cancer patients. *Cancer Res Clin Oncol* 100 : 73—84, 1981
  - 12) 藤田登美雄, 林 守正, 石田泰夫: 高速液体クロマトグラフィーによるポリアミンの分析. *島津評論* 38 : 131—134, 1981
  - 13) Dykstra WG, Herbst EJ: Spermidine in regenerating liver: Relation to rapid synthesis of ribonucleic acid. *Science* 149 : 428—429, 1965
  - 14) Raina A, Jänne J, Siimes M: Stimulation of polyamine synthesis in relation to nucleic acids in regenerating rat liver. *Biochim Biophys Acta* 123 : 197—201, 1966
  - 15) Miyata K: Delayed recovery of mitochondrial function in rat liver after releasing biliary obstruction. *Nagoya J Med Sci* 45 : 97—105, 1983
  - 16) 鈴木 宏: GOT, GPT その数値をどう読むか. *日臨* 34 : 2444—2452, 1976
  - 17) 佐藤寿雄, 小山研二: 閉塞性黄疸の病態生理—肝障害を中心として—. *外科* 36 : 426—433, 1974
  - 18) Hölttä E, Jänne J: Ornithine decarboxylase activity and the accumulation of putrescine at early stages of liver regeneration. *FEBS Lett* 23 : 117—121, 1972
  - 19) Hölttä E, Sinervirta R, Jänne J: Synthesis and accumulation of polyamines in rat liver generating after treatment with carbon tetrachloride. *Biochem Biophys Res Commun* 54 : 350—357, 1973
  - 20) Siimes M: Studies on the metabolism of 1,4-C-spermidine and 1,4-C-spermine in the rat. *Acta Physiol Scand Suppl* 298 : 1—66, 1967
  - 21) Pegg AE, Matsui I, Seely JE et al: Formation of putrescine in rat liver. *Med Biol* 59 : 327—333, 1981
  - 22) Matsui I, Pegg AE: Increase in acetylation of spermidine in rat liver extracts brought about by treatment with carbon tetrachloride. *Biochem Biophys Res Commun* 92 : 1009—1015, 1980
  - 23) Miura Y, Fukui N: Pleiotypic response of regenerating liver. *Adv Enzyme Regul* 14 : 393—405, 1976
  - 24) Kato Y, Nishihara H, Inoue H et al: Polyamine metabolism and DNA synthesis in regenerating rat liver. *J Biochem* 84 : 1617—1623, 1978
  - 25) Pösö H, Pegg AE: Effect of  $\alpha$ -difluoromethylornithine on polyamine and DNA synthesis in regenerating rat liver, reversal of inhibition of DNA synthesis by putrescine. *Biochimica et Biophysica Acta* 696 : 179—186, 1982
  - 26) Schrock TR, Oakman NJ, Bucher NLR: Ornithine decarboxylase activity in relation to growth of rat liver. *Biochim Biophys Acta* 204 : 564—577, 1970
  - 27) 向山憲男: 肝再生に関する実験的研究—閉塞性黄疸解除後の肝切除ラットについて—. *日消外会誌* 14 : 1427—1435, 1981
  - 28) Matsui I, Pegg AE: Effect of thioacetamide, growth hormone or partial hepatectomy on spermidine acetylase activity of rat liver cytosol. *Biochim Biophys Acta* 633 : 87—94, 1980
  - 29) 黒川善栄: 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene 投与によるラット肝癌形成過程における肝組織および尿ポリアミンの動態. *名古屋医学* 106 : 189—196, 1984
  - 30) Milano G, Aussel C, Stora C et al: Intrahepatic polyamine levels during rat liver carcinogenesis induced by N-2-fluorenylacetamide. *Carcinogenesis* 2 : 109—113, 1981
  - 31) Selmeçli L, Pösch E, Mosonyi J et al: Effect of unilateral ureteral obstruction on renal polyamine levels in rats. *Experientia* 37 : 24—25, 1981
  - 32) Ekström J, Rosengren E: Changes in diamine and polyamine metabolism in the duct-ligated submaxillary and sublingual glands of the rat. *Acta Physiol Scand* 119 : 287—292, 1983
  - 33) Daikuhara Y, Tamada F, Takigawa M et al: Changes in polyamine metabolism of rat liver after administration of D-galactosamine. *Gastroenterology* 77 : 123—132, 1979
  - 34) Desser H, Kleinberger G, Kläring J: Plasma polyamine levels in patients with liver insufficiency. *J Clin Chem Clin Biochem* 19 : 159—164, 1981