

氏 名	大 西 治 夫 おおにし はる お
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	論 薬 博 第 125 号
学位授与の日付	昭 和 49 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	チトクローム C の薬理作用に関する研究

(主 査)
論文調査委員 教授 岡田壽太郎 教授 高木博司 教授 山科郁男

論 文 内 容 の 要 旨

チトクローム C は鉄を含むヘム蛋白質で、電子伝達系の一員として、エネルギー産生組織における酸化速度を調節する重要な因子である。また臨床的には組織の酸素欠乏に由来する各種の疾患に適用されているが、投与経路は非経口的なものに限られていた。一方、小川らはチトクローム C が腸管吸収され、肝および腎に比較的多く分布することを証明し、次いで著者は消化管内および静脈内に投与されたチトクローム C が肝実質細胞内に取込まれることをフェリチン抗体法を用いた免疫電子顕微鏡的方法により明らかにした。そこで、著者は経口投与されたチトクローム C の肝におよぼす作用を数種の模型病像を用いて検討した。

1. 実験的四塩化炭素肝障害におよぼすチトクローム C の影響

四塩化炭素肝障害は、肝疾患の模型病像として広く利用されている。著者は、Donryu 系の雄ラット (10週令) に四塩化炭素 0.2 ml/kg/day を、連続 3 日間腹腔内に投与し、肝障害を惹起させた。四塩化炭素投与により、血清トランスアミナーゼ活性の上昇、肝トランスアミナーゼ活性の低下、BSP 保持能の増大、肝トリグリセリドの増加、血糖および肝グリコーゲンの減少、肝および血清のビルビン酸およびクエン酸の減少、肝 ATP の減少、ミトコンドリア組織呼吸機能の低下、肝および血清の脂質過酸化物の増加および空胞変性、脂肪滴の出現を特徴とする病理組織学的変化が認められた。

一方、四塩化炭素投与の前日より、チトクローム C 50, 100 および 200 mg/kg/day を筋注または腸溶顆粒として経口投与することにより、四塩化炭素による上記の変化は軽減または抑制された。チトクローム C の四塩化炭素肝障害防禦の機序は、肝 ATP の増加によって示唆されるミトコンドリア機能の賦活および脂質過酸化物減少などによる総合的なものであらうと思われた。チトクローム C の脂質過酸化物生成抑制は、試験管内において 10^{-6} モル濃度から認められた。

さらに、チトクローム C は、 10^{-4} モル濃度で赤血球の低張溶血を約 38% 抑制し、また、デキストラン投与によるラットの足浮腫は、チトクローム C 300 mg/kg/day を 2 日間腸溶顆粒として経口投与するこ

とにより、49%抑制された。このような膜安定化作用や抗炎症作用も、チトクロームCの四塩化炭素肝障害防禦の作用機序を考えるうえで重要な意義を有するものと思われた。

2. 老齡ラットの肝機能低下におよぼすチトクロームCの影響

四塩化炭素肝障害は中毒性の肝障害であり、ヒトの肝疾患の適切な模型病像か否かは問題である。一方、長期間飼育している老齡ラットの血清トランスアミナーゼ活性の上昇および BSP 保持能の増大など肝機能が低下していることより、著者は肝機能低下の模型病像としての老齡ラットにおよぼすチトクロームCの影響を検討した。

さらに、500日令老齡ラットにおいては、血清および肝の脂質と脂質過酸化物の増加、血糖、肝グリコーゲン、肝グルタチオンおよび肝 ATP の減少、肝のグルコース 6 ホスファターゼ、フルクトース -1,6-ジホスファターゼ、ATP サイトレトリアーゼ、アシル CoA 合成酵素各活性およびミトコンドリア脂酸化能の低下および細胞内の空胞化を特徴とする病理組織学的変化などが認められた。

一方、チトクロームC 100mg/kg/day を21日間連続筋注あるいは腸溶顆粒として経口投与された老齡ラットの肝機能は回復し、脂質の減少が認められそのほかの加齢に伴う変化も軽減ないしは消失した。特に、チトクロームC投与によって肝アシル CoA 合成酵素の活性が著しく上昇した。しかしながら、老齡ラット肝から得た粗酵素抽出液に、チトクロームCを添加しても活性の上昇は認められなかった。従ってチトクロームCの脂質低下作用は、チトクロームCが直接肝アシル CoA 合成酵素を賦活して脂質異化を促進したのではなく、ミトコンドリアの機能亢進にもとづく二次的な脂質異化の促進によるものであろう。

また、脂肪組織の糖の取込みおよび脂肪酸の放出を、試験管内でチトクロームCは 5×10^{-6} モル濃度で抑制し、脂質低下作用との関連性があるように思われた。このような肝の脂質の減少は、肝機能賦活に重要な意義を有するものであろう。また、ミトコンドリアのエネルギー代謝の改善、肝グルタチオンの増加および脂質過酸化物の減少なども、老齡ラットの肝機能賦活にとって重要な役割を演じているものと思われた。さらに、チトクロームC投与によって肝細胞数および二核細胞数が著明に増加し、肝機能賦活との関係に興味をもたれた。

3. 実験的高脂血症、動脈硬化症におよぼすチトクロームCの影響

チトクロームCが老齡ラットの脂質低下作用を有していることより、実験的高脂血症動脈硬化症におよぼすチトクロームCの影響を検索した。

1%コレステロール食を10週間摂取させて作製した実験的高脂血症、動脈硬化症家兎においては、血清、肝および大動脈の脂質の増加、大動脈粥状硬化の進展、血清レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ活性および肝アシル CoA 合成酵素活性の低下および大動脈リポ蛋白リパーゼ活性の上昇が認められた。

一方、コレステロール負荷と同時にチトクロームC 1および 100 mg/kg/day を10週間連続経口投与したところ、血清脂質の上昇は抑制され、また大動脈の粥状硬化も、100 mg/kg 投与群では抑制される傾向を示した。しかし、肝および大動脈の脂質量は、対照群とほぼ同程度であった。肝アシル CoA 合成酵素および血清レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ活性は、チトクロームC投与によって上昇し、大動脈リポ蛋白リパーゼ活性は低下の傾向を示した。

チトクロームCの血清脂質低下作用は、アシル CoA 合成酵素およびレシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ活性の上昇によって示される脂質異化の亢進によるものであろう。さらにチトクロームC投与により、スロンボエラストグラフでの r 値が延長し、血液凝固遅延の傾向を示したことは、粥状硬化の抑制と関係があるものと思われた。

以上、著者は、チトクロームCの肝におよぼす作用を、病態動物を用いて検討し、チトクロームCが四塩化炭素肝障害を防禦し、老齢ラットの低下した肝機能を賦活しさらにコレステロール負荷による高脂血症を抑制することを、証明した。

論文審査の結果の要旨

本論文はチトクロームCの肝機能に及ぼす影響の研究に関するものである。著者は、まず消化管内あるいは静脈内に投与されたチトクロームCが、肝実質細胞にとり込まれることを確かめた後、四塩化炭素により肝障害をひき起こしたラットを用いて、チトクロームCがミトコンドリア機能を賦活し、脂質過酸化物を減少させるなど総合的に見て肝障害を回復することを認めた。

ついで、肝機能が自然的に低下した250日令、500日令の老齢ラットを用いて同様の投与実験を行ない、チトクロームCにより肝細胞数の増加など明瞭な肝機能の賦活を認めた。

これらの成果は、肝臓に対するチトクロームCの作用機作の解明と同時に、一般肝障害ならびに肝老化現象の回復に光明を与えるものといえる。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。