

肝機能とアミノ酸に関する実験的研究

岐阜県立医科大学第1外科学教室（指導：鬼束惇哉教授）

酒 井 淳

（原稿受付 昭和35年 8月30日）

EXPERIMENTAL STUDIES ON LIVER FUNCTION AND AMINO ACIDS

by

JUN SAKAI

The 1st Department of Surgery, Gifu Prefectural Medical School

(Director : Prof. Dr. ATSUYA ONITSUKA)

It is the intention of the present experiment to study the amino acid metabolism in the liver disturbance.

By means of paper chromatography of two dimensions with butanol and phenol, the distribution of free amino acids in ascites, in the lymph from the liver surface, porta hepatis, thoracic duct and peripheral lymph, in the serum from the portal, hepatic and peripheral veins, and in urine was studied, using one hundred seventy mongrel dogs with ascites which was produced by constriction of the thoracic inferior vena cava. Thirty dogs used as control.

The following results were obtained.

1) Free amino acids in lymph.

On the paper chromatogram developed from the lymph samples of the experimental ascitic dogs, the amino acids increased in number and concentration, comparing with those of normal dogs. The principal amino acids increased in those cases were identified to be valine, proline, aspartic acid and alanine. They are glycogenic and non-essential amino acids, except valine. From this fact it is suggested that they are closely related with the glycogen and ammonia metabolism.

Composition of free amino acids found in ascites and in the lymph originated from the liver surface and the hepatic porta in the experimental ascitic dogs was approximately similar respectively. This findings support the theory that ascites originates in the subcapsular lymph of the liver resulted from liver congestion.

2) Free amino acids in serum.

The portal vein serum of the experimental ascitic dogs indicated less number of free amino acids than those of normal dogs, but any amino acids that is in one of them is always in the other of them. This consequence is explained by the fact that the absorbing mechanism from the intestine wall is able to keep amino balance in portal blood.

With exception of valine, no significant difference in distribution of amino acids in the hepatic vein serum was noted between normal dogs and ascitic dogs. It is thought from this consequence that it is controlled by the autolysis of protein in the liver.

In the peripheral vein serum a prominent increase of valine, histidine and aspartic acid was found. These amino acids are glycogenic. Therefore they are supposed to have the same metabolic relationship as the free amino acids in lymph.

3) Free amino acids in urine.

Both number and density of the amino acids increased in the urine of the dogs with experimental ascites. The increased spots correspond to the glycogenic and essential amino acids such phenylalanine, valine, methionine and threonine, with exception of nucleic amino acids.

The increase of these urinary amino acids is caused by the deamination and transamination in the liver or the imperfect reabsorption of renal tubules.

内 容 目 次

緒言

実験材料と方法

実験動物

採取試料

ペーパークロマトグラフィー

実験成績

第1項 リンパ中の遊離アミノ酸

I 腹水中の遊離アミノ酸

II 肝表面リンパ中の遊離アミノ酸

III 肝門リンパ中の遊離アミノ酸

IV 胸管リンパ中の遊離アミノ酸

V 末梢リンパ中の遊離アミノ酸

VI 小括

第2項 血清中遊離アミノ酸

I 門脈血清中の遊離アミノ酸

II 肝静脈血清中の遊離アミノ酸

III 末梢静脈血清中の遊離アミノ酸

IV 小括

第3項 尿中遊離アミノ酸

小括

総括並びに考按

結論

参考文献

緒 言

肝はアミノ酸代謝の面では云う迄もなく最も重要な位置を占め、従つて逆にアミノ酸の動向を以つて肝の健否を察知し得る。しかし乍ら肝の脱アミノ能力には可成りの余裕があり、肝を80%剔除してもその生体に大なる影響はみられず、90%剔除すると始めてこの機能が明らかに低下することを実験的に認めている。肝を全剔すると血中アミノ酸は直ちに増量する。Marshall等が実験的肝障碍の末期に血中及び尿中にその増量を認めて以来、幾多の報告は肝が障害された場合血中、尿中共にアミノ酸が増量することを承認しているが、尚若干の論議がある。

これらアミノ酸の動態はペーパー・クロマトグラフ

イーの応用によつて追々と明らかになり、殊に尿と血液とに関する研究が多い。なおこの血中アミノ酸については殆どが末梢静脈血における検索であつた。私は実験的に作成した腹水貯溜犬を用い、末梢静脈血及び尿のみならず、肝へ流入する門脈血、流出する肝静脈血、更に腹水、肝表面リンパ、肝門リンパ、胸管リンパ、末梢リンパなどについてペーパー・クロマトグラフィーによつてアミノ酸を検索し、これを正常犬と比較検討し腹水犬におけるアミノ酸の動態を明らかにせんとした。

実 験 材 料 と 方 法

実験動物

24時間絶食せしめた10kg内外の健康成犬170頭に、

McKeeの方法に従い胸部下大静脈を横隔膜上方で1/3に狭窄し、その後1～2週間にて確実に腹水の貯溜せるものを選んで実験に供した。其の際、腹水は1,500cc乃至2,500cc、門脈圧は180mmH₂O～230mmH₂Oであつた。肝の組織像は、肝細胞の著明な萎縮、肝細胞索解離、小葉細管の拡張、充血等すべて肝内鬱血の像を示している。

対照正常犬30頭に於ける門脈圧は110mmH₂O～150mmH₂Oであつた。

採取試料

対照正常犬及びMcKee犬について

1) 血清

門脈、肝静脈、末梢静脈より直接採取し、これより血清を分離した。

2) 尿

膀胱穿刺により採取した。

3) リンパ

腹水は穿刺により、また肝表面リンパは肝をビニール包の一端にビニールチューブを取り付けたもので被い採取した。肝門部リンパ、胸管リンパ、末梢リンパはそれぞれのリンパ管内腔にビニールチューブを直接挿入し持続的に採取した。

ペーパー・クロマトグラフィー

本実験に用いたペーパー・クロマトグラフィーには、試料（リンパ3cc(末梢リンパのみ1cc)、血清3cc、尿5cc)に前処置として未変性無水アルコールを終濃度が70%になる様に加え、3000回転/分、10分間遠心沈澱し、その上清に精製クロロホルム3倍容を加

えて振盪分液し、これを中間層の形成を全く認めず下層が水様透明になる迄反復し、次いで上層を室温にて減圧乾固し、これに蒸留水0.2ccを加え溶解する。その0.01ccを濾紙原点に滴下附着せしめ、なおこの滴下斑を可及的小さくする様に努めた。

展開には二次元ペーパー・クロマトグラフィーを採り、濾紙は東洋濾紙 No. 50(40×40cm)、溶媒は一次元に80%フェノールを、二次元にn-ブタノール：醋酸：水(4:1:2及び9:1:2.5)を用いた。フェノール、ブタノールはその都度新調した。なお展開中は20℃の恒温室に保持した。

呈色には0.2%ニンヒドリン・ブタノール溶液噴霧後、100℃加温発色せしめ、その発色斑は、同一検体について同一条件のもとに既知アミノ酸によつて同定し、不明確なものには添加実験をも行なつて同定の正確を期した。

各クロマトグラフでの呈色斑の発色度及びその面積に応じて強度(++)、中等度(+)、弱度(±)に区分して半ば定量的に取扱つた。尤も各アミノ酸の最低検出量はそれぞれ相違するので、これで各アミノ酸の絶対量の相互比較をなし得ないことは勿論である。

実験成績

第1項 リンパ中の遊離アミノ酸

I 腹水中の遊離アミノ酸

20例について、7乃至11個の呈色斑を認め、その15例以上にロイシン、バリン、プロリン、アルギニン、リジン、グルタミン酸、シスチンを認めた(図1、表1)。

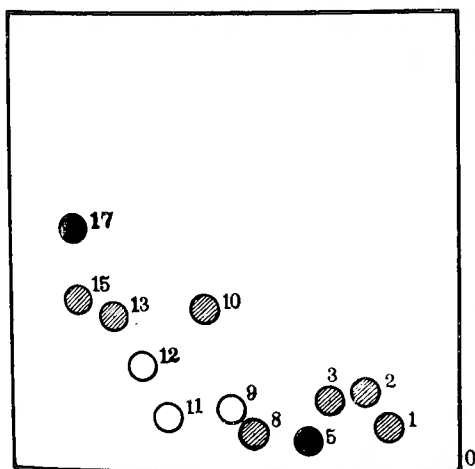


図1 腹水中遊離アミノ酸のペーパー・クロマトグラフ

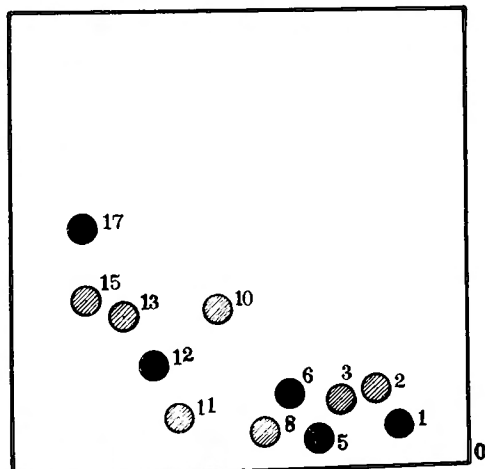


図2 肝表面リンパ中遊離アミノ酸のペーパー・クロマトグラフ

- 1 Cystine

2 Aspartic acid

3 Glutamic acid

4 Histidine

5 Lysine

6 Glycine

7 Serine

8 Arginine

9 Threonine
- 10 Tyrosine

11 Alanine

12 Proline

13 Methionine

14 Tryptophan

15 Valine

16 Phenylalanine

17 Leucine (Isoleucine)

0 原点

● 強 度 ⊗ 中 等 度 ○ 弱 度

縦軸……ブタノール・醋酸・水 横軸……フェノール

表1 腹水中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
22	+		+		+	+			±	+			+		+		+	9
35	+		+			±		+		+		+	+		+	+	+	10
27	+		+			+	+	+		+		+	+			+	+	10
44	+		+		+	+		+	+	+			+		±		+	10
45	+		+		+	±			±	+					+	+	+	9
50	+				+	±	±	+	±	+			+		+	+	+	11
52	+		+			+	+	+		+			+		+	+		9
51	+		+		+		+	+				+	+		+		+	9
46			+				+		+	+		+	+			+	+	8
102			+					+	+	+		+	+		+		+	8
104	+		+			±	+	+	+	±					+	+	+	10
108	+		+		+	+		+	+				+		+	+	+	10
98	+		+		+			+		+		+	+			+	+	9
107	+		+			±	+	+	+	+					+	+	+	10
130			+				+		+	+		+	+				+	7
136	+				+	+		+		+		+	+		+	+		9
138	+		+		+	+				+		+	+			+	+	9
135			+		+	+	+		±			+	+		±		+	9
147	+		+		+	+	+			+		+	+		±		+	10
146			+			+		+	±	+		+	+		+		+	9
Total	15	0	18	0	11	15	10	13	12	17	0	12	17	0	15	12	18	

尚ロイシン、イソロイシンはR_fが近似しているので1個とし、又トリプトファンとメチオニンとはR_fが近接しているので鑑別明確なもののみ類別し、他はメチオニンとして取り扱った。なお検出されたペプチッド、アミン等の呈色斑は除外した（以下同様）。

Ⅱ 肝表面リンパ中の遊離アミノ酸

20例について7乃至12個の呈色斑を認め、15例以上にアルギニン、リジン、アスパラギン酸、シスチンを

認めた（図2、表2）。

Ⅲ 肝門リンパ中の遊離アミノ酸

正常犬10例では6〜8個の呈色斑を認め、腹水犬25例では8〜11個の呈色斑を認め、後者ではバリン、トリプトファン、メチオニン、プロリン、アスパラギン酸等の増加が10数例にみられ、またグルタミン酸はその濃度を増している（図3、4、表3、4）。

Ⅳ 胸管リンパ中の遊離アミノ酸

表2 肝表面リンパ中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
6	+				+	+	+	+	+			+	+		+	+	+	11
17	+		+				+	+	±	+		+	+			+	+	10
21	+					+	+			+		+	+			+	+	8
35			+		±			+		+	±		+			+	+	8
43	+				+	+	±	+		+	+	+	+		+		+	11
45	+				±	+		+	+	+	±		+			+	+	10
51			+			±		+	±				+		+	+		7
52	+		+		+		+		+	+		+	+		+	+	+	11
66			+			+	+	+		+	±		+		±		+	9
68	+					+		+				+			+	+	+	7
84	+					+			+			+	+		+	+	+	8
104	+		+		+					+	+	+	+			+	+	9
108	+		+		+		+	+		+		+	+			+	+	9
107			+				+		+	+		+	+		+		+	8
110	+		+			+		+		+		+	+			+	+	8
132					+	±				+		+	+			+	+	7
138			+		±		+		±		+	+	+		±		+	8
139	+		+		+		+	+	±	+	+	+	+		+		+	12
141			+		+		+	+		+		+				+	+	8
147	+		+			+	+	+		+		+	+				+	8
Total	13	0	13	0	11	11	11	13	8	16	7	14	17	0	10	15	18	

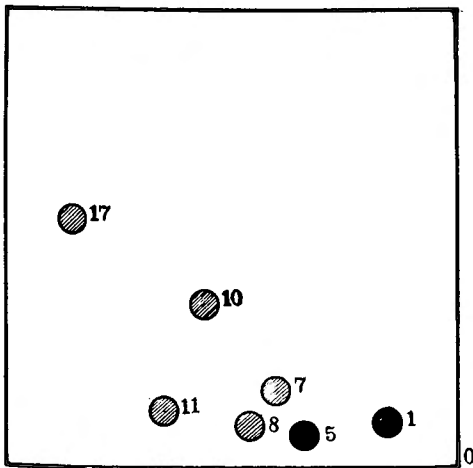
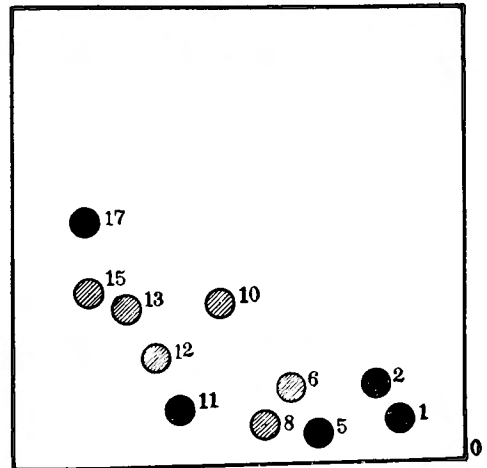
図3 正常犬肝門リンパ中遊離アミノ酸の
ペーパー・クロマトグラフ図4 腹水犬肝門リンパ中遊離アミノ酸の
ペーパー・クロマトグラフ

表3 正常犬肝門リンパ中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
201	+						+	+		+	+		+				+	7
202	+							+	+	+		+	+				+	7
203							+	+		+	±		+		±		+	7
204	+						+		+	+	+	+	+				+	8
205	+							+	±		±	+	+				+	7
206	+								±		+	+	+		+		+	7
207	±						+	+		±			+		±		+	7
208							+	+	±		±		+				+	6
209	+						+		±	+		+	+		+		+	8
210							+	+		+		+	+		±		+	7
Total	7	0	0	0	0	0	7	7	6	7	6	6	10	0	5	0	10	

表4 腹水犬肝門リンパ中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
17	+		+		+	+	+	+		+		+	+			+	+	11
21	+					+		+		+		+	+		+		+	8
23				±	+		±	+	+	±	±	+	+		+		+	10
26							+	+	+	+	±	+	+		+		+	9
25							+	+	+	+	+	+	+		+		+	9
35			+				+	+		+		+	+		+	+	+	9
44					+	±	+			+	+		+		+		+	8
45					+	±	+	+			±	+	+			+	+	9
50	+				+		+		±		+	+	+		+		+	9
51	+		+			+						+	+		+	+	+	8
46	+		+	±	+				±	+	+	+	+			±	+	11
34					+		+	+		+		+	+		+		+	8
66	+		+			+			±	+	+	+	+			+	+	10
71							+	+	±	+	+		+		+		+	8
74	+				+		+		+		±	+	+		+		+	9
82	+		+			+			+	+	+	+	+			+	+	10
96							+	+	+	+	+	+	+			+	+	9
108	+				+	±		+		+		+	+			+	+	9
107	+		+			+			±	+	+		+		+		+	9
110	+		+			+	+			+	+		+		+	±	+	10
130	+				+		±	+	+		±	+	+				+	9
138	+		+		+	+	+				±	+	+				+	9
135			+		+		+		+	+			+		+	+	+	9
139	+		+			±		+		+		+	+		+		+	9
147	+					±	+	+		+	±		+		+		+	9
Total	15	0	11	2	12	13	17	14	13	19	17	18	25	0	16	11	25	

表5 正常犬胸管リンパ中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
211	+				±			+		±			+	+	+	+	+	9
212	+							+	+		+		+		+	+	+	8
213	+				+				+	±		+	+	+			+	8
214	+							+	+	±		+	+	+		±	+	9
215								+	+	±	±		+		+	±	+	8
216					±			+		±		+	+	+	+		+	8
217	+							+	+		±		+			+	+	7
218	+				±					+	±		+		+	±	+	8
219					±			+	+	±				+	+		+	7
220	+				+					+			+	+	+		+	7
Total	7	0	0	0	6	0	0	7	6	8	4	3	9	6	7	6	10	

表6 腹水犬胸管リンパ中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
4	+		+		+			+		+		+	+	+		+	+	10
13					+	±	+	+	+		±	+	+		+		+	10
16	+				+	+	+	+	+	±			+				+	9
12	+		+		+		+	+	+	+			+			+	+	10
23	+		+			+		+	+	+		+	+	+	+		+	11
35	+		+		+			+	+	+	+		+	+	+		+	11
52	+				+	+		+	+	+	+		+	+	+		+	11
53					+	±	+		+	±		+			+	+	+	9
57					+	+		+	+	±		+	+	+			+	9
64	+				±			+	+		±	+	+	+	+		+	10
63	+		+				+		+			+	+		+	+	+	9
66	+				+	+			+	+		+	+	+	+		+	10
72					+	±	+	+		+	+	+	+		+	+	+	11
75	+				+	+			+		+	+		+	+	+	+	10
81	+		+					+	+	±		+	+		+	+	+	10
90	+		+		+		+			±		+	+	+		+	+	10
102	+				±	±	+			±		+	+	+	+	+	+	11
104	+				±			+	+	+	+		+		+	+	+	10
108					±	±		+	+	±	±		+			+	+	9
107					+	±	+		+	+		+	+	+		+	+	10
111	+				+	+		+	+	+	±		+		+		+	10
116					+	±	+	+	+			+	+		+		+	9
121	+				+	+		+		+		+		+	+		+	9
130	+		+		±			+	±	+		+		+			+	9
141	+					+	+	+		+	+		+			+	+	9
Total	18	0	8	0	21	16	11	18	19	20	10	17	21	13	16	13	25	

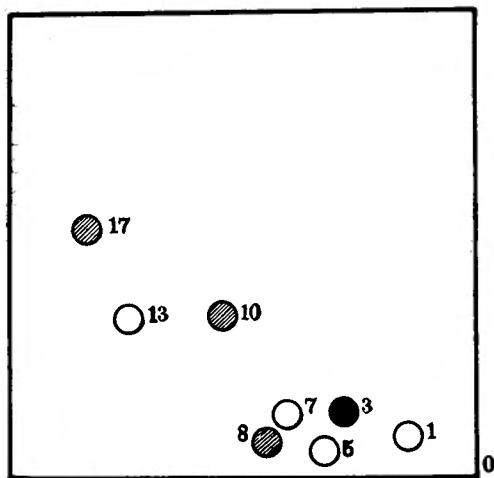


図5 正常犬胸管リンパ中遊離アミノ酸の
ペーパー・クロマトグラフ

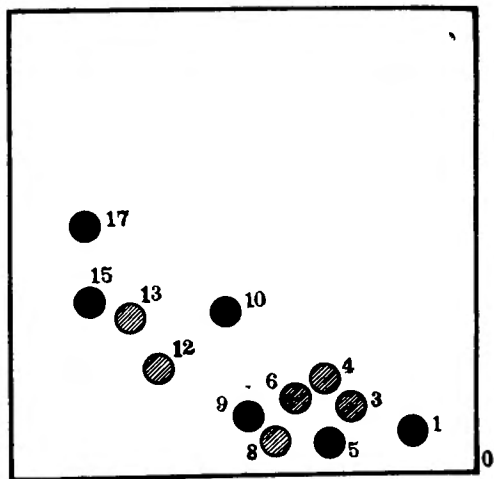


図6 腹水犬胸管リンパ中遊離アミノ酸の
ペーパー・クロマトグラフ

正常犬10例では7～9個の呈色斑、腹水犬25例では9～11個の呈色斑を認めた。バリン、プロリン、アラニンは腹水犬のみに現れ、メチオニン、スレオニン、チロジン、グリシン、アスパラギン酸は腹水犬において正常犬に比しその量を増している（図5, 6, 表5, 6）。

V 末梢リンパ中の遊離アミノ酸

正常犬5例に5乃至6個の呈色斑、腹水犬10例に6～8個の呈色斑を認めた。アラニン、チロジンは腹水犬のみに現れ、グリシン、リジン、シスチン等は正常

犬に比し腹水犬ではその量を増している（図7, 8, 表7, 8）。

なお末梢リンパは、リンパ管が狭小なる上に流出量が少なく採取が困難であつたので、他の検査例よりも例数が少ない。

VI 小括

正常犬並びに腹水犬の各リンパ中の遊離アミノ酸は、腹水犬において正常犬に比しその呈色斑の数は増加し、濃度も増しバリン、プロリン、アスパラギン酸、

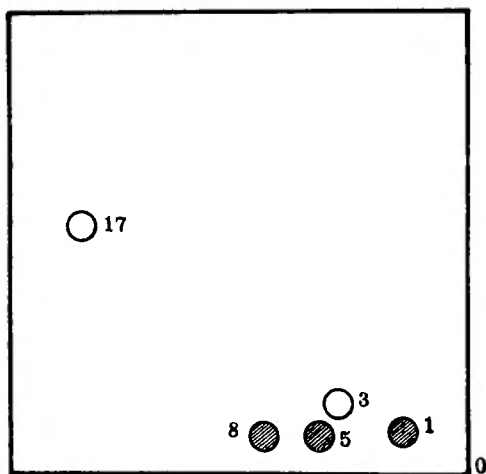


図7 正常犬末梢リンパ中遊離アミノ酸の
ペーパー・クロマトグラフ

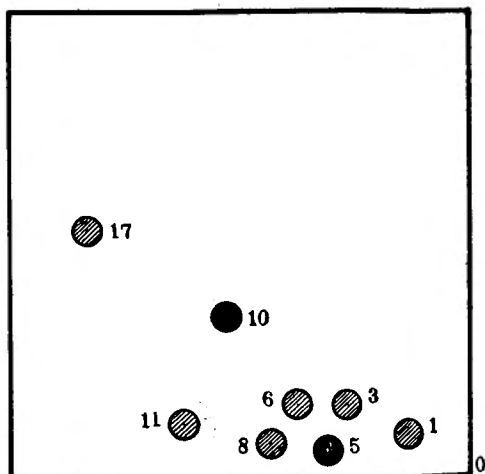


図8 腹水犬末梢リンパ中遊離アミノ酸の
ペーパー・クロマトグラフ

アラニン等がその主なものである。これらのアミノ酸はすべてグルコース生産性アミノ酸であり、バリンを除き非必須アミノ酸である。

腹水犬における腹水、肝表面リンパ、肝門部リンパ

中の各遊離アミノ酸組成はほぼ類似している。

第2項 血清中の遊離アミノ酸

I 門脈血清中の遊離アミノ酸

正常犬10例において11~14個の呈色斑、腹水犬25例

表7 正常犬末梢リンパ中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
221	±									+			+		±		+	5
222									±				+	+	+		±	5
223										+	±	±	+				+	5
224	+									±		±	+		+		+	6
225									±	+		+	±				+	5
Total	2	0	0	0	0	0	0	0	2	4	1	3	5	1	3	0	5	

表8 腹水犬末梢リンパ中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
87								+	+		+	+	±		+		±	7
108	+							±		+		+	+	+	+		±	8
110	±									+	±	+	±	±	+		+	8
131							+	+	±	+	±		+				+	7
133	+						+	±		+		+	±		+		+	8
140							+	+	+			+	+		+		±	7
142	±							+		+		+	±	±			+	7
145	+						+			+	±		+		+		+	7
146	+						+		+			+		+			±	6
150							+	±		+		+	+		+		±	7
Total	6	0	0	0	0	0	6	7	4	7	4	8	9	4	7	0	10	

表9 正常犬門脈血清中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
226	±	+	+		+	+	+	±	+	±		+	±		+		±	13
227	±	±					±	±	±	+	+	±	±	+	+		±	12
228	±	+	±		+		±		+	±		±	±			+	±	11
229	+			±	±	+		±	+	±		+	±	+	+		±	12
230	±	+	±			+	+	±	±	+	±	+	±	+		+	±	14
231	±	±	+					±	+	±	+	±	+	+	±	+	±	13
232	+				±		+		±	+	+	+	+		±	+	+	11
233	±		±	±	+		±	±	+	+	±	+	+		+		±	13
234	±	+			+	+		+	±	+		+	±	+		+	+	12
235	+		+		±		+		±	+	+	+	±	+			±	11
Total	10	6	6	2	7	4	7	7	10	10	6	10	10	6	6	5	10	

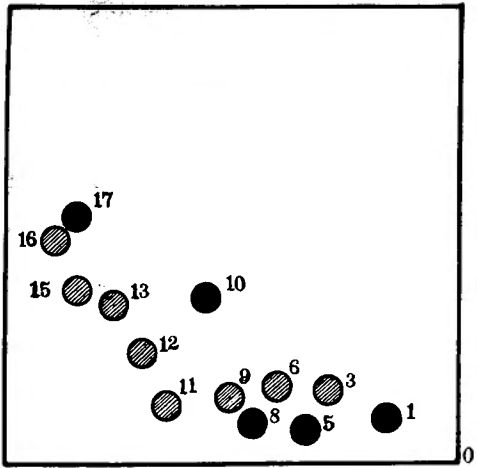


図9 正常犬門脈血清中遊離アミノ酸の
ペーパー・クロマトグラフ

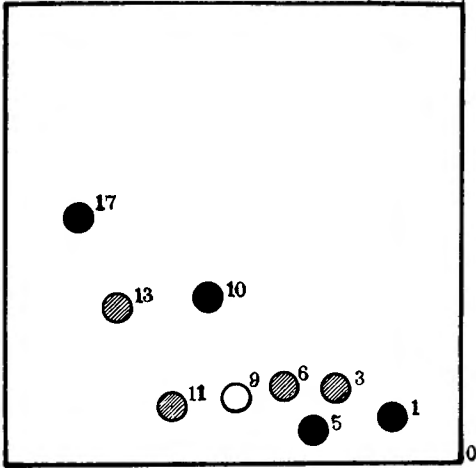


図10 腹水犬門脈血清中遊離アミノ酸の
ペーパー・クロマトグラフ

表10 腹水犬門脈血清中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
12	+				+		+	+	±			+	+			+	+	9
27			+				+	+		+		±	+	+	+		+	9
35	+	+					±	+	±	+	+	±	+		+		+	11
44	+				±			+	±	+	+	+	+		+		+	10
50		+					±		+	+	±		+	+	+		+	9
45	+						±		+		+	±	+				+	7
52			+			+				+		+	+	±	+		+	8
46		±					+	+	+	+	+		+		+		+	9
73	+	+					±	+	±	+		+	+		+			9
81						+		+		+		±	+	±		+	+	8
102			+			±		+	+	+		±	+				+	8
104			+					+	±		+	+	+	+	+		+	9
108	+						+	+		+			+		+	+	+	8
107	+				+		+	+	±	+	±		+				+	9
125		±					+	+	+	+		±	+				+	8
130	+							+	+	+	±	+	+	+	+		+	9
131	+				+		+	+	±	+	±	+	+		+	+	+	12
136	+				+			+	+	+			+		+	+	+	9
147						+		+			±	+	+	+	+			7
143							±		+	+		+	+	+			+	7
150	+				+			+		+	+		+		+			7
151							+	+	+			±	+	+			+	7
156	+		+				±	+	±	+	+		+	±	+		+	11
153					+		±	+		+	+	+	+		+		+	9
159	+					+			+	+	+	±	+		+		+	9
Total	13	5	5	0	7	5	15	19	18	20	14	18	25	10	17	5	22	

においては7～12個の呈色斑を認め、腹水犬において各例の呈色斑数の減少をみている。しかし特定のアミノ酸の増減は認めなかつた。またその濃度において特に云々する事は出来ないが総じて僅かに減量しているように思われる。殊にグリシンの場合はこの変化が明かである(図9, 10, 表9, 10)。

Ⅱ 肝静脈血清中の遊離アミノ酸

正常犬10例において8～10個の呈色斑を認め、腹水犬20例においては9～11個の呈色斑を認めた。腹水犬のみに認められたアミノ酸はバリンだけであつて、その他の呈色斑の出現率には大差なく、濃度の増減も著明ではない(図11, 12, 表11, 12)。

Ⅲ 末梢静脈血清中の遊離アミノ酸

正常犬10例において6～8個の呈色斑を認めたのに対し、腹水犬20例では9乃至12個とその差は大きい。腹水犬のみにみられた遊離アミノ酸はバリン、プロリン、ヒスチジンであり、フェニールアラニン、チロジン、アスパラギン酸等の出現率の差も大きい。呈色斑の示す濃度も一般に腹水犬では正常犬よりも強濃度を示している(図13, 14, 表13, 14)。

Ⅳ 小括

正常犬及び腹水犬の門脈、肝静脈、末梢静脈の各血清中遊離アミノ酸をペーパー・クロマトグラフィーにより検索し次の結果を得た。

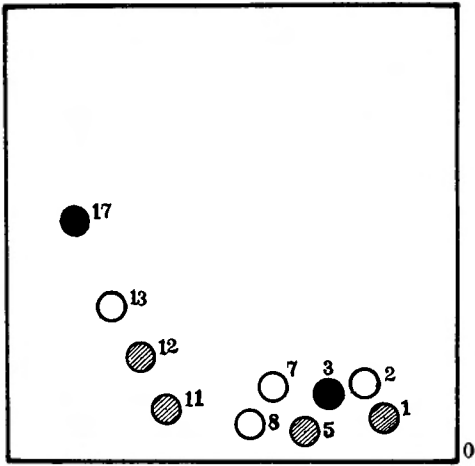


図11 正常犬肝静脈血清中遊離アミノ酸のペーパー・クロマトグラフ

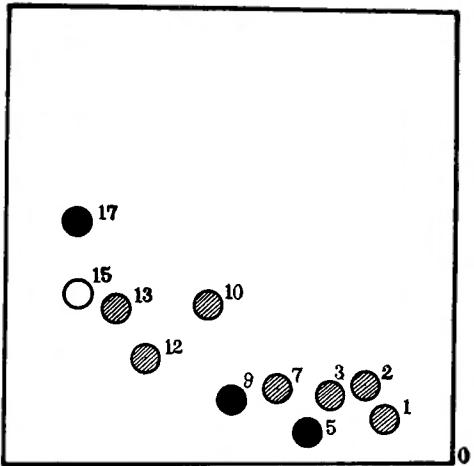


図12 腹水犬肝静脈血清中遊離アミノ酸のペーパー・クロマトグラフ

表11 正常犬肝静脈血清中の遊離アミノ酸

Amino acid	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
Dog number																		
236	+				±	±	+		+	+		+	±		±		+	10
237					+	±		+	+	±		+	±			+	±	9
238					±		+	+		±	+	+	±			+	±	9
239	+					+	±		+			+	±		±		+	8
240	±				±	+	+			±	±	+	+		±	±	+	10
241						±	+			±	±	+	+	±			+	8
242	±					±	±	+		+	±	+	±				±	8
243	+					+			+	+		+	+		+		+	8
244					±	±		+	+	±		+	+			±	+	9
245	+					+			+			+	+	±		±	+	8
Total	6	0	0	0	5	8	6	4	6	8	4	8	10	3	4	5	10	

門脈血清中遊離アミノ酸は腹水犬では肝静脈や末梢静脈血清と異なり、正常犬よりもその呈色斑の数が減少している。しかし門脈血清以外の例の如く正常犬も

しくは腹水犬のみに現れたと云うアミノ酸はなかった。

肝静脈血清ではバリンの差のみで正常犬と腹水犬と

表12 腹水犬肝静脈血清中の遊離アミノ酸

Amino acid	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
Dog number																		
34	+					+	+	+		+	+	+	+		+		+	10
52					+	+	+		+	+		+	+		+	+	+	10
51			+	±		+				+	+	+	+	+	+		+	10
46	+				+	+		+	+			+	+			+	+	9
48	+					+	+	+	+	+		+	+		+		+	10
55	+					+	+	+		+	+		+		+	+	+	10
63			+			+	+		+	+	+	+	+	+	+		+	11
61				±		+	+	+	+	+	+	+	+		+		+	11
84	+				+	+		+	+	+	+	+	+		+		+	10
90						+	+	+	+	+		+	+			+	+	9
102	+					+	+	+	+	+		+	+			+	+	10
104	+				+	+		+	+		+		+		+	+	+	10
134	+				+		+	+	+			+	+		+	+	+	10
136			±			+	+		+	+		+	+	±	+		+	10
132	+			±		+		+		+	+		+	+			+	9
110	+					+	+		+	+		+	+		+		+	9
140	+				+	+		+		+	+	+	+		+		+	10
137	+			±	+	+				+	+	+	+	+		+	+	11
139	+					+	+	+		+	+	+	+		+		+	10
141	+						+	+	+		+	+	+		+		+	9
Total	14	0	3	4	7	18	13	11	12	16	12	17	20	5	15	8	20	

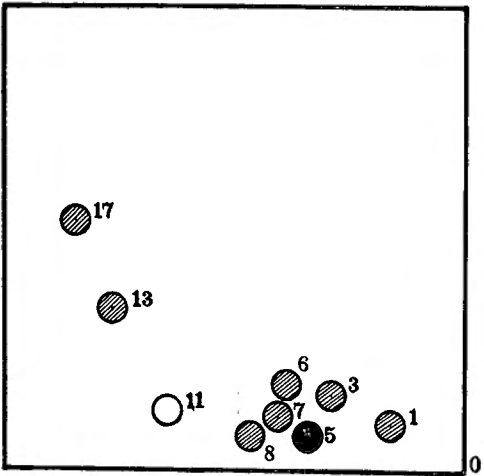


図13 正常犬末梢静脈血清中遊離アミノ酸のペーパー・クロマトグラフ

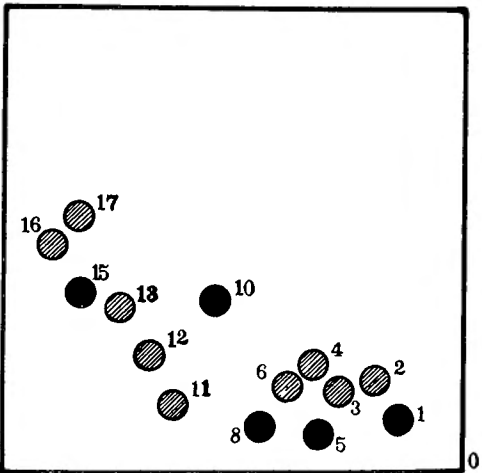


図14 腹水犬末梢静脈血清中遊離アミノ酸のペーパー・クロマトグラフ

に著明な差を認める事が出来なかつた。

末梢静脈血清では、バリン、プロリン、ヒスチジン、アスパラギン酸等の増加が著明で、これらのアミノ酸は不確定のヒスチジンを加えて総べてグルコース生産性アミノ酸であつた。

第3項 尿中遊離アミノ酸

正常犬10例において4～6個の呈色斑を認め、これに対し腹水犬20例では9～12個の呈色斑を認めた。腹水犬のみに認められたアミノ酸は、フェニールアラニン、バリン、メチオニン、プロリン、チロジン、スレ

表13 正常犬末梢静脈血清中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
246	+				+		+				+	+			+		+	7
247	+				+			+			±	±	±				+	7
248	+				+					+	+	+	±		+		+	8
249	±	±			±		±		+		+	+			+			7
250							+		+	+	+	+	±		+		+	8
251								+		+	+	+	±		+		+	6
252					±				±	+	+	+	+		±		+	8
253	+						±			+	+		±			+	+	7
254	+						+			+	+	+	±				+	7
255		+					+			+	+	+	+		+		+	8
Total	6	2	0	0	5	0	6	2	3	7	8	9	8	0	7	1	9	

表14 腹水犬末梢静脈血清中の遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
18	+		±		±		±	+			+	±	±		±	+	±	11
12		+	+		+		+		+	±	+	±			+	+	±	11
54			±				+	+	+		+	±	±		±	+	±	10
34	+				+	+				±	+	+	+		+		±	9
61	+	±			±	±		+		±	+	±	+	+	+		+	12
63	+				+		±				+	±	+		+	±	+	9
76	+	+			+		+	+		+	±	±		+	+	+	+	12
102	±		±		+		+	±	±		+	+			+	+	±	11
104		+	+			+	±	+	±	+	+	+			±	±	+	12
108	+		±		+		+	±				+	+		+	+	+	10
115		+			±	±	+	+		+	±	±			+	±	+	11
130	±	+	±				+	±	+	±	±	±			+		+	10
131	±	+	±			+				+		+	±	+	±		+	10
134			±			+	±	+	±		±	±			±	+	±	10
138	+	+			+	+				+	+	+	±	+	+		±	11
141	±		+		+		+				+	+	±		+	+	±	10
145			+		±	±	+	+	±	+			+		+	+	+	11
146			+		+	+	+			+		±	±		+	+	±	10
151	±	+	±				+	+		+	+	±	±		+	+	+	12
152	+		±				+	+		+		±	+		+	+	+	10
Total	13	9	14	0	13	9	15	13	7	13	15	19	13	4	20	15	20	

オニン, アスパラギン酸であつて, ロイシン, アラニン, グリシン, グルタミン酸は腹水犬では正常犬よりも濃度を増している (図 15, 16, 表15, 16).

小括

尿中遊離アミノ酸で腹水犬のみに現れたものは, フェニールアラニン, バリン, メチオニン, プロリン,

チロジン, スレオニン, アスパラギン酸で, これらは分子量の比較的低いものが多く, 有核アミノ酸を除きグルコース生産性のアミノ酸であつた. またフェニールアラニン, バリン, スレオニン等のような必須アミノ酸の増加をみた.

表15 正常犬尿中遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
256	±						±				±	+		±				5
257	±						±			+			±	±			±	6
258							+				±		±		±			4
259	±											±			±		±	4
260										±		±	±	±	+		±	5
261	±									+		+	±	+			±	6
262	±						±			±			+		+		+	6
263	±						+					±		+			±	5
264										+	+	+	+		+		±	6
265							+				+	+	+				+	5
Total	6	0	0	0	0	0	6	0	0	5	4	6	7	5	5	0	8	

表16 腹水犬尿中遊離アミノ酸

Amino acid Dog number	Leu	Phe	Val	Try	Met	Pro	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ser	Gly	Lys	His	Glu	Asp	Cys	Total
67	±		+		+		+	±	+	±	±			±	±	+	±	12
71	±	+			+	±		+	±	+		±		±		+	+	10
89	±		±				±	±		+	+		±	±	+		±	10
82	±	±	±			+			±			±		+	±	+	+	10
90	±				+		±	±	+	±		±		+		+	±	10
86	+					+		+	+	+	±		+		±		±	9
104	±	+	+		+	+			+			±	±	+	+	+	±	11
105	+		±		+		+	+		+		±		±		±	±	10
106	+		+			±		+		+		±			+	+	+	9
113	+		+				+	±		+	+		±		±	+	±	10
115	±		+		±	+			+		±	+		±	+	±	+	11
121	±		+		+	+	±		+	+		±	±	+		+	+	12
124	+					+	±	±		±	+		±	+	+		+	10
130	±					±	±			+			±	+	+	+	±	9
137	±		+		+	±	+	±	±	+	+		±	+		±	±	12
138	±	±	±			+		+		+		±	±				±	9
140	±	±			±		±	+			+	+	±		±		±	10
145	+	+				±	+	+	±		+	+	+	±		±	+	12
146	±		+		+		+			±		+	±	±			+	9
150	+				±	+			+	±			+		±	+	±	9
Total	20	6	12	0	10	13	12	13	10	15	9	12	13	13	12	14	20	

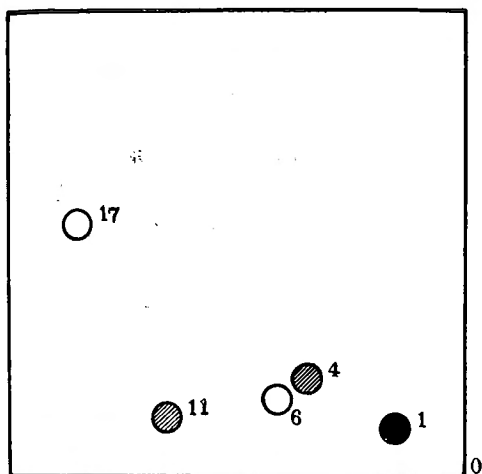


図15 正常犬尿中遊離アミノ酸のペーパー・クロマトグラフ

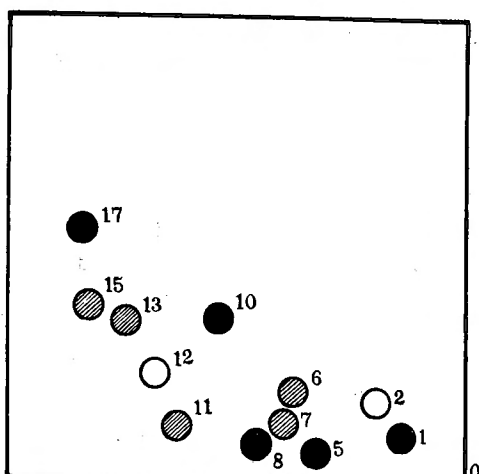


図16 腹水犬尿中遊離アミノ酸のペーパー・クロマトグラフ

総括並びに考按

尿中のアミノ酸はリンパ及び血清中のアミノ酸と多少傾向を異にしている。代謝障害によつて排泄される尿中遊離アミノ酸については、Dent がペーパー・クロマトグラフィーによる検索を開始して以来、種々のアミノ酸が確認されている。Dunn らが25例の肝疾患の尿について15種のアミノ酸を測定して、メチオニン、スレオニン及びバリンが主として増量することを報告し、Schreier もまたメチオニン増加例の多いことを認め、森はロイシン、チロジン、アルギニン、トリプトファン、アスパラギン酸、プロリン等の排泄の増加を報告している。本実験ではフェニールアラニン、バリン、メチオニン、プロリン、チロジン、スレオニン、アスパラギン酸の排泄の増加をみた。

尿中アミノ酸排泄増加の原因として、Dunn 等は、

1. 肝臓によるアミノ基脱とアミノ基転移の減少。
2. 組織破壊程度の増加。
3. 肝臓や組織による酸化と利用の減少。
4. 腎尿細管による再吸収の減少。
5. 一種又は数種の必須或は非必須アミノ酸の欠如。

を挙げ、なお尿中アミノ酸増加は肝のアミノ基脱、アミノ基転移の減少を主因とする事が多く、又一方腎尿細管との関係をも無視出来ないと云う。

Kirk はアミノ酸クリアランスを行つて、血中アミノ酸濃度が増加した場合、尿中アミノ酸濃度も上昇す

る事を述べている。

血清及びリンパ中のアミノ酸の消長については、Chesney (1914年) が肝不全におけるアミノ酸尿について述べて以来、末梢静脈血に関する報告は多いが、門脈血、肝静脈血に関しては甚だ少ない。殊にリンパ中のアミノ酸についての報告は殆んど見当らなかつたが、本実験で、リンパ中で著しい増加を示すものが主としてバリン、プロリン、アラニン、ヒスチジン、アスパラギン酸等で、バリン以外は非必須アミノ酸であり、必須アミノ酸はバリン以外はそれほど著しい変動を示さず、又その殆んどがグルコース生産性アミノ酸であることを明かにした。尚、これらのアミノ酸は分子量の比較的小さいものであつた。

GLYCOGENIC AMINOACIDS

Glycine	Glutamic acid
Alanine	Isoleucine
Serine	Aspartic acid
Threonine	Arginine
Cystine	Proline
Valine	(Histidine, Methionine)

必須アミノ酸、非必須アミノ酸なる分類法は Rose の栄養学的見地からなされたものであり、観点を変え、非必須アミノ酸はこれに対応するケト酸が生体内でアンモニアを incorporate して合成出来るアミノ酸であると言える。本学長尾、平野によれば McKee 犬においては血中アンモニアの増加が殆んど必発的に認められる。増加したアンモニアが生体内のケト酸に

incorporate され、アミノ基転移を起した結果としてアラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸を始めとする非必須アミノ酸の増加が現れたものであり、その一方で必須アミノ酸はこれに対応するケト酸がなくアンモニアを incorporate する事が出来ないためにその増加が示されないと考えられる。

また末梢静脈血清中の遊離アミノ酸において正常犬と McKee 犬の差が大きい事は、末梢組織におけるアンモニア代謝が活発であると云う平野の言を裏付けるものである。

次にグルコース生産性に関しては、Rogerが肝細胞の抗毒作用と肝糖原量との間に密接な関連のあることを指摘しており、Neuberg, LangsteinはDL-アラニンの投与が家兎肝糖原量を増加させることを認め、SimonはStrychninを投与して肝糖原を減少させた家兎にロイシンを投与した結果、肝糖原量の増加を示さないことを認め、井上らはアスパラギン酸を投与した家兎において肝糖原量の増加、胆汁分泌量の増加、脱アミノ基作用及び尿素生成作用の亢進を認め、アスパラギン酸が肝臓機能の亢進に重要である事を立証している。教室伊藤は、肝細胞内糖原量には正常犬とMcKee犬との間に著しい差異を認められないが、後者に減少傾向があると云う。これと、McKee犬において排泄増加するアミノ酸にグルコース生産性アミノ酸が多い事との両者よりして、肝内糖原の貯蔵はグルコース生産性アミノ酸排泄増加の為に減少するのではあるまいとも考えられる。これは更に今後に残された課題である。

腹水、肝表面リンパ、肝門リンパ中の各遊離アミノ酸の組成がほぼ類似している事は興味があり、これは教室早野の主張を裏付けするものである。しかし実験例中には腹水におけるものが肝表面漏出リンパにおけるよりも数種のアミノ酸について増多を見た例がある。これは腹水中のアミノ酸が肝表面のみならず他の臓器腹膜から漏出されたものをも含むのではあるまいかと想像される。

門脈血清中の遊離アミノ酸においては、腹水犬では正常犬よりもその出現呈色斑数が減少しているが、腹水犬もしくは正常犬の何れかだけに特有なアミノ酸は認めなかった。元来腸壁からの吸収機構には、濾過、拡散、滲透、溶解、電気的現象などの物理的要因のほか、膜透過性、血流量および速度、さらに内分泌、神経、酵素など生物学的な多くの要因が関与しているので、門脈血清中のこの成績に対して一元的な結論を求

めえない事は云う迄もない。しかしながらアミノ酸相互の量的比率がアミノ酸吸収に大きな影響を与えていることが古くから知られているように、消化管より分泌される内因性蛋白と摂取蛋白ないしアミノ酸が混合することにより小腸内のアミノ酸組成を常にほぼ一定に保つことは、アミノ酸比率の不均衡を調節し、門脈血中のアミノ酸組成の大きな変化を予防するのに役立つと考えている。

肝静脈血清においては正常犬と腹水犬とに著明な差異を認めなかった。これは絶食後の肝がその合成蛋白を分解することによつて、アミノ酸を肝静脈中へ放出し、血中アミノ酸の調節を行なっているものと考えられる。

末梢静脈血清では、腹水犬にグルコース生産性アミノ酸の増加を認め、リンパ同様の糖代謝について説明し得るものと考えられる。

肝に関する複雑多様な病態生理については、単なる遊離アミノ酸の測定のみで全貌を窺うべくもないが、これがアミノ酸代謝と密接な関係があること、これに糖の中間代謝障害が関連している事及びアンモニア代謝が関連している事などを明らかにし得たと考える。

結 論

正常犬30頭及び胸部下大静脈狭窄による腹水犬170頭についてペーパー・クロマトグラフィーにより血清、リンパ及び尿中の遊離アミノ酸を検索し、次の結果を得た。

1. リンパ中の遊離アミノ酸は腹水犬では正常犬に比し、質、量共に増加を認め、その増加せるアミノ酸の主なもの是非必須アミノ酸であり、グルコース生産性アミノ酸であつた。これはアンモニア代謝、糖代謝と密接な関係のある事を明らかにした。

2. 血清中遊離アミノ酸では、門脈血清において腹水犬は正常犬に比しアミノ酸数、濃度共に減少し、肝静脈血清では大差なく、末梢静脈血清では増加を認めた。増加したアミノ酸は主として非必須アミノ酸であり、グルコース生産性アミノ酸であつて、リンパ中遊離アミノ酸同様の代謝関係を示した。

3. 尿中遊離アミノ酸は正常犬に比し、腹水犬ではアミノ酸数、濃度共に増加を認めた。増加したアミノ酸は有核アミノ酸を除きグルコース生産性であつたが、前二者と異なりフェニールアラニン、バリン、メチオニン、スレオニン等の必須アミノ酸を認めた。

(本論文の要旨は第60回日本外科学会において発表した)

参 考 文 献

- 1) Consden, R. et al. : Qualitative analysis of proteins : a partition chromatographic method using paper. *Biochem. J.*, **38**, 224, 1944.
- 2) Chesney, A. M. et al. : Studies in liver function. *J. Am. Med. Ass.*, **63**, 1533, 1914.
- 3) Dunn, M. S. et al. : Urinary excretion of amino acids in liver disease. *J. Clin. Invest.*, **29**, 302, 1950.
- 4) Dent, C. E. et al. : Amino acid metabolism in liver disease. In Sherlock, S. and Wollstenholme, G. E. W., Ed. Ciba Foundation Symposium on Liver disease. J. & A. Churchill Ltd, London. 22, 1951.
- 5) Denton, A. E. et al. : Amino acid concentration in the portal vein after ingestion of amino acid. *J. Biol. Chem.*, **206**, 455, 1954.
- 6) Gordon, S. et al. : Paper chromatography of free amino acids in blood plasma. *J. Lab. Clin. Med.*, **43**, 827, 1954.
- 7) 早野薫夫 : Experimental studies on ascites, 日外宝, **27**, 1063, 昭33.
- 8) 日野厚 : 血液アミノ酸に関する研究(第2報). 日内会誌, **45**, 601, 昭31.
- 9) 平野良吉 : 未刊
- 10) 必須アミノ酸研究会 : アミノ酸シリーズ, 世界保健通信社, 昭34.
- 11) 市原便他 : アミノ酸と蛋白合成. 診療, **10**, 344, 昭32.
- 12) 市原便 : 蛋白質及びアミノ酸の生化学. 共立出版, 昭27.
- 13) 伊藤春雄 : 未刊
- 14) Iber, F. L. et al. : The plasma amino acids in patients with liver failure. *J. Lab. Clin. Med.*, **50**, 417, 1957.
- 15) 小林清基 : アミノ酸及び糖の肝臓機能に及ぼす影響. 内科宝函, **4**, 596, 昭32.
- 16) 三浦健 : 門脈外科におけるアミノ酸代謝の研究. 臨床外科, **14**, 1039, 1959.
- 17) 森甫 : 肝臓障害時に於ける尿中アミノ酸に関する知見補遺(I). 内科宝函, **2**, 47, 昭30.
- 18) Marshall, E. K. : Studies in liver and kidney function in experimental phosphorus and chloroform poisoning. *J. Exp. Med.*, **22**, 333, 1915.
- 19) McKee, F. M. et al. : Experimental ascites. *Surg. Gyn. Obst.*, **89**, 529, 1949.
- 20) McKee, F. M. et al. : Protein metabolism and exchange as influenced by constriction of the vena cava. *J. Exp. Med.*, **87**, 457, 1948.
- 21) Mellinkoff, S. M. et al. : Amino acid in arterial and hepatic venous blood of patients with Laennec's cirrhosis. *Gastroenterology*, **36**, 780, 1959.
- 22) Moore, S. et al. : Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. *J. Biol. Chem.*, **176**, 367, 1948.
- 23) 長尾道雄 : 未刊
- 24) Neuberg, C. et al. : Ein Fall von Desamidierung in Thierkörper ; zugleich ein Beitrag zur Frage nach der Herkunft des Glykogens. *Arch. f. Physiol., Suppl.-Bd.*, **514**, 1903.
- 25) 王子喜一他 : 肝疾患時のアミノ酸代謝. 診療, **10**, 402, 昭32.
- 26) Onen, K. H. et al. : Amino acids in hepatic venous and arterial blood investigated by paper chromatography. *Lancet*, **271**, 1075, 1956.
- 27) Roger, W. N. : Changes in normal and allergia rabbits after intraparenchymal ingestions of serum, and modifications induced by oral administration of alcohol. *Quart. J. Stud. on Alcohol*, **7**, 325, 1946.
- 28) 佐竹一夫 : クロマトグラフ. 共立出版, 昭28.
- 29) 渋谷博 : 肝機能と血中アミノ酸との関係. 日医大誌, **23**, 661, 昭31.
- 30) Schreier, K. : Untersuchungen über den Aminosäuren-stoffwechsel bei Erkrankungen der Leber. *Deutsche Wochenschr.*, **76**, 868, 1951.
- 31) Sheffner, A. L. et al. : Studies on amino acid excretion in man. I. Amino acid in urine. *J. Biol. Chem.*, **175**, 107, 1948.
- 32) Simon, O. : Zur Physiologie der Glykogenbildung. *Zeit. Physiol. Chem.*, **35**, 315, 1902.
- 33) Stein, W. H. et al. : The free amino acids of human blood plasma. *J. Biol. Chem.*, **211**, 915, 1954.
- 34) Walshe, J. M. : Disturbances of amino acid metabolism following liver injury. *Quart. J. Med. n. s.* **22**, 483, 1953.
- 35) Wu, C. et al. : Changes in free aminoacids in the plasma during hepatic coma. *J. Clin. Invest.*, **34**, 845, 1955.