

氏名・(本籍) 深野美也(神奈川県)  
学位の種類 医学博士  
学位記番号 論医博第69号  
学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当  
学位授与年月日 平成2年6月28日  
学位論文題目 5'-nucleotidase activities in sera and liver tissues of viral hepatitis patients  
(肝炎患者の血清及び肝組織の5'-N活性)

審査委員 主査 教授 野崎光洋  
副査 教授 挟間章忠  
副査 教授 細川四郎

## 論文内容要旨

### 〔緒言〕

血清5'-nucleotidase(5'-N)活性の上昇は種々の肝疾患において報告されている。胆汁うっ滞の存在する肝疾患においては5'-N活性は著明に上昇し、肝炎においては軽度ないし中等度の活性上昇があるとされる。しかしながら肝疾患における血清5'-N活性上昇のメカニズムはいまだ明らかでない。5'-Nは全身の細胞の形質膜外側に高い活性を有するecto-enzymeで、主に膜のマーカー酵素として扱われてきた。

肝疾患において血清5'-N活性上昇は肝由来と考えられているが肝組織中の5'-N活性については報告がない。今回著書は肝炎患者の血清5'-N活性上昇の機序を明らかにする目的で、急性肝炎、慢性肝炎患者の血清及び組織中の5'-N活性を測定した。一部組織について5'-Nの酵素細胞化学的検索をおこないその局在を明らかにした。

### 〔検体及び方法〕

検体は肝機能検査、組織学的検査により診断された急性肝炎15例、慢性肝炎15例より得られた肝組織及び血清を用いた。針生検によって得られた肝組織をホモゲナイズ後遠沈し上清としたものと、同時期に採取した血清を検体とした。5'-N活性測定はGentry-Olsson法によりradiometric assayを用いた。蛋白量はLowry法を用いて測定し、5'-N活性はn mole adenosine/hr/mg proteinで表される。血清alkaline phosphatase(Al-p)及び $\gamma$ -glutamyle

transpeptidase ( $\gamma$ -GTP) を同時に測定し血清 5'-N と比較検討した。5'-N の酵素細胞化学は Wachstein-Meisel 法を用いた。

#### 〔結果〕

- ① 組織 5'-N 活性：正常肝では  $298.8 \pm 86.7$  n mole adenosine / hr / mg protein、急性肝炎では  $598.1 \pm 198.3$ 、慢性肝炎では  $462.3 \pm 91.3$  であった。急性肝炎及び慢性肝炎ともに正常肝組織に比して有意な上昇を認めた。
- ② 血清 5'-N 活性：正常血清では  $0.714 \pm 0.106$ 、急性肝炎では  $1.162 \pm 0.479$ 、慢性肝炎では  $0.845 \pm 0.530$  であった。急性肝炎においては正常血清に比して有意な上昇を認めたが、慢性肝炎では上昇を認めなかった。
- ③ 組織及び血清 5'-N 活性の相関：急性肝炎においては両者の間に相関は認めなかったが慢性肝炎においては有意な相関を認めた。
- ④ 血清 5'-N 活性と  $\gamma$ -GTP 及び Al-p との相関：急性肝炎では 5'-N は  $\gamma$ -GTP と相関を認めたが、Al-p とは相関を認めなかった。慢性肝炎では 5'-N は  $\gamma$ -GTP, Al-p とともに有意な相関を認めた。
- ⑤ 5'-N の酵素細胞化学：正常肝組織では 5'-N は毛細胆管側及び、sinusoid 側に軽度の活性を認めた。急性肝炎では sinusoid 側及び毛細胆管側のみならず lateral surface 側にも高い活性を示す細胞が散見された。慢性肝炎では軽度の活性を毛細胆管側及び sinusoid 側に認めたが lateral surface 側にはほとんど活性は認められなかった。

#### 〔考察〕

組織 5'-N 活性は急性肝炎及び慢性肝炎において共に有意な上昇を認めた。胆汁中には 5'-N 活性が高く肝炎組織には軽度の、或いは局所的な胆汁うっ滞が通常認められる。この高い 5'-N 活性を含む胆汁うっ滞が 5'-N 活性上昇の原因と考えられた。

個々の患者の組織及び血清 5'-N 活性の相関を見ると慢性肝炎では有意な相関があったが急性肝炎では相関は認められなかった。したがって、肝組織中の 5'-N 活性上は血清 5'-N 活性上昇の本質的な要因とは考えにくく、他の因子の存在を考慮すべきであると思われた。

胆汁酸は界面活性作用をもち生理的に膜障害を伴わず肝細胞外膜に存在する 5'-N を毛細胆管腔に遊離させる。遊離した 5'-N は lateral surface をとおる血中へ leak する可能性が存在する。肝炎においては著明な胆汁うっ滞は認めないが軽微な、或いは局所的な胆汁うっ滞が存在する。急性肝炎組織の酵素細胞化学的検索により、強い 5'-N 活性が毛細胆管より sinusoid に及ぶ、lateral surface に沿って認められた。以上の事実は肝炎においては強い 5'-N 活性を含む胆汁が毛細胆管より sinusoid へ leak することを強く示唆するものであり血清 5'-N 活性上昇の一つの要因と考えられた。

一方、sinusoid 側において細胞膜結合 5'-N が直接血中へ shedding するという報告がある。

肝炎の際、炎症過程で肝細胞膜の障害が起こり 5'-N を含んだ sinusoid 側の膜断片が直接血中へ shedding することが十分に考えられ、これも又血清 5'-N 活性上昇の要因と考えられた。

急性肝炎では 5'-N は  $\gamma$ -GTP とは有意な相関を認めたが A-1 p とは認められなかった。慢性肝炎では 5'-N は  $\gamma$ -GTP, A-1 p 共に相関を認めた。これらの結果より急性肝炎と慢性肝炎では 5'-N の血中への遊離の機序が幾分異なると考えられた。

#### 〔結語〕

急性肝炎及び慢性肝炎組織中の 5'-N 活性は正常に比して高値を示し血清 5'-N 活性上昇の一つの要因と考えられたが、その活性上昇の本質的因子とは考えにくい。5'-N を血中へ放出させる他の要因を考慮しなければならない。すなわち肝炎における血清 5'-N 活性上昇の機序として、lateral surface を介した強い 5'-N 活性を持つ胆汁の sinusoid 腔への leak 及び sinusoid 側において 5'-N 活性を持つ細胞膜が炎症性障害により直接血中へ shedding する二つの可能性が重要と考えられた。

### 学位論文審査の結果の要旨

5'-Nucleotidase (5'-N) は全身の細胞の形質膜外側に活性を有する ecto-enzyme であり、血清 5'-N 活性は細胞の膜障害を表わすパラメーターの一つとして臨床検査に使用されている。5'-N 活性の上昇がウイルス性肝炎を含む種々の肝疾患において報告されている。しかしながら肝炎における血清 5'-N 活性の上昇のメカニズムについては未だ明らかではない。著者は急性肝炎、慢性肝炎患者の組織及び血清中の 5'-N 活性を測定し、又 5'-N 酵素細胞化学的検索によりその局在を明らかにし血清 5'-N 活性上昇のメカニズムについて検討した。

生化学的には組織 5'-N 活性は急性肝炎及び慢性肝炎において共に上昇を認めた。血清 5'-N 活性は急性肝炎では上昇を認めたが慢性肝炎では上昇は認められなかった。組織及び血清 5'-N 活性の相関については急性肝炎では相関を認めたが慢性肝炎では認めなかった。他の胆道系酵素との比較にても急性肝炎と慢性肝炎との間には差があり、急性肝炎と慢性肝炎では血清 5'-N 活性上昇のメカニズムには相違があることが示唆された。

形態的には正常肝組織では 5'-N 活性は肝細胞の毛細胆管側に中等度、sinusoid 側に軽度の活性を認めるのに対して、急性肝炎では毛細胆管側及び sinusoid 側のみならず、いわゆる lateral surface 側にも強い活性が存在していた。慢性肝炎では毛細胆管側及び sinusoid 側に中等度、lateral surface 側には軽微な活性を認めた。

これらの生化学的、形態学的結果より、肝組織中 5'-N 活性上昇の原因は主として高い 5'-N 活性を含む胆汁の軽微ないしは局所的うっ滞にあると考えられた。急性肝炎では強い 5'-N 活性が lateral surface に沿って認められ、この所見は 5'-N が lateral surface 側を介して毛

細胆管側より血中へ leak する可能性を強く示唆するものであり急性肝炎の際の血清 5'-N 活性上昇のメカニズムとしてもっとも重要と考えられた。

以上、本研究は 5'-N の生化学的、形態学的検索により肝炎における血清活性上昇のメカニズムの一つの可能性を示したもので、今後の肝疾患における membrane enzyme の研究に寄与するところ大であり、学位論文として価値あるものと認める。