

B-18 サリチル酸投与と脂肪酸 β 酸化能の変化 —ラット肝灌流による解析—

研究協力者：楠 智一（京都府立医科大学 小児科）

共同研究者：衣笠昭彦、古川宣明、寺田直人、越智雅晴、幸道直樹、

山本 徹（京都府立医科大学 小児科）

井上文夫（同付属小児疾患研究施設内科部門）

【目的】 Reye症候群では血中の脂肪酸の異常高値や肝の脂肪変性などから脂質代謝異常の存在が強く疑われる。一方、Reye症候群とサリチル酸の関連が疫学的に有意であるとする報告があり、サリチル酸の脂質代謝におよぼす影響については興味もたれる。サリチル酸の培養細胞に対する影響や肝ミトコンドリに対する影響についての報告は多いが、肝組織全体に対する影響についての報告は少ない。そこで我々は、摘出灌流肝を用い、サリチル酸の脂質代謝について検討を加えることにした。今回はオレイン酸を基質として、その β 酸化能をケトン体産生能から算定する予備的実験を行ったので報告する。

【方法】 Thurmanら¹⁾の方法に従い、Krebs-bicarbonate緩衝液を95%O₂、5%CO₂混合ガスで飽和し、摘出肝の門脈より注入、下大静脈より灌流液を採取した。サリチル酸等の負荷薬剤は肝の注入部直前に投与し、その終濃度が有効血中濃度あるいは生体の正常血中濃度の約3倍になるように調製した。ケトン体はWilliams onの方法で測定し、肝の一部を光顕、電顕にて検索した。負荷薬剤としては、サリチル酸、バルプロ酸、カルニチンを使用した。オレイン酸は20%アルブミン溶液に加えよく攪拌したのち用いた。²⁾

【成績】 （1）サリチル酸投与時のケトン体産生

24時間絶食にしたSD系雄ラットの灌流肝にオレイン酸0.34mMを投与し、10分後よりサリチル酸3mMを投与した。図1に示すようにオレイン酸の投与で増加した3-hydroxy-butyrate（以下3-OHB）はサリチル酸投与で、ほぼ完全に抑制された。acetoacetate（以下AcAc）はサリチル酸の投与により若干増加した。酸素

消費はオレイン酸の投与により増加し、サリチル酸の投与によりさらに増加した。

(2) サリチル酸投与時の組織学的変化

バッファー、オレイン酸のみの投与では光顕、電顕には変化はなかった。24時間絶食にしたラットにオレイン酸0.34mMとサリチル酸3mM投与(約40分)した場合、光顕で広範な空胞変性を認めた。(写真1)この変化が中心静脈を中心としたものか、門脈域を中心としたものなのかは判断できなかった。電顕では膨化したミトコンドリアを多数認めた。一方、自由に摂食させたラットに同様の実験を行ったが、光顕、電顕ともに変化を認めなかった。24時間絶食にしたラットにサリチル酸10mMとオレイン酸0.34mMを投与した場合は、光顕でfocalな変性像を認めた。電顕では膨化したミトコンドリアと、少数の脂肪滴を認めた。(写真2)

(3) サリチル酸とカルニチンの投与時のケトン体産生

カルニチン0.3mMとオレイン酸0.34mMとサリチル酸3mMを投与した。図2のようにオレイン酸投与で増加した3-OHB産生は、サリチル酸の投与で抑制されたが、その程度はカルニチン非投与時に比べて軽度であった。AcAcはやや増加していた。酸素消費はサリチル酸投与で増加した。

(4) バルプロ酸投与時のケトン体産生 オレイン酸0.34mMを投与したのちバルプロ酸0.3mMを投与した。図3のように、3-OHBの産生はバルプロ酸投与により完全に抑制された。AcAcの産生はあまり変化しなかった。酸素消費はオレイン酸の投与で増加したが、バルプロ酸の投与では変化しなかった。

[考察] 今回の実験は何れも例数が少なくプレリミナリーなものであったが、サリチル酸によるケトン体産生の抑制と、組織の変化についてはほぼ一定の成績が得られている。サリチル酸3mMを40分灌流した場合、自由摂食ではなんらの組織変化もなかったのに対し24時間絶食にした場合は、肝に空胞変性が認められたのは、注目すべきことであった。実際栄養状態が悪い東南アジアでライ症候群の発生頻度が高いと伝えられており栄養状態とライ症候群の発生についても今後目を向けていく必要があると思われる。今回認められた肝細胞の空胞変性は脂肪染色の結果から脂肪浸潤ではないと結論された。しかしながら、この空胞変性が脂

肪浸潤へ発展する1ステップであるかどうかについては実験方法を変えてたしかめる必要がある。

サリチル酸、バルプロ酸の何れもが 3-OHBの産生を完全に抑制した。しかし酸素消費は、サリチル酸では増大したが、バルプロ酸は変化しなかった。サリチル酸は呼吸鎖の uncoupler として知られている。酸素消費の増大はそのためと思われるが、ケトン体産生の抑制が uncoupler 作用に二次的なものであるかどうかは不明である。一方、バルプロ酸はそれ自体が脂質であり細胞内で酸化を受けていく際に代謝産物が β 酸化を抑制するとも言われている。またvalproyl-CoAがミトコンドリア内に増加しその結果ミトコンドリアの機能を障害するとも言われている³⁾が詳細は不明である。今後は負荷薬剤などを工夫しサリチル酸や、バルプロ酸の脂質代謝への影響のメカニズムを多面的に検討したい。

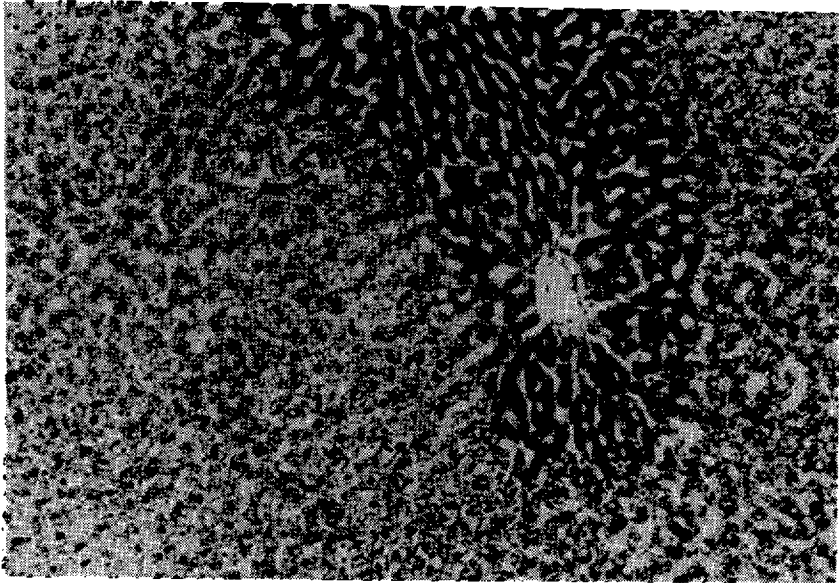


写真1 サリチル酸3mM投与時(24時間絶食)の組織変化
HE染色 x70

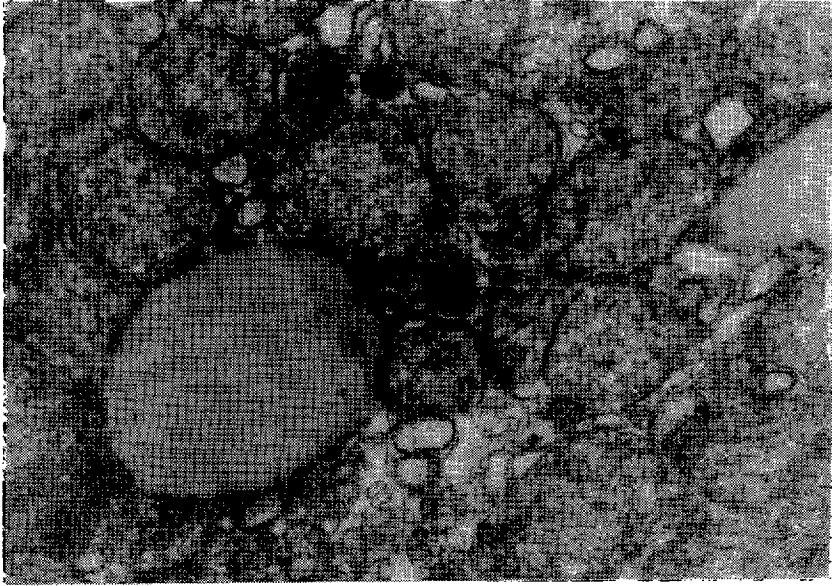


写真2 サリチル酸10mM投与時(24時間絶食)の組織変化
電顕

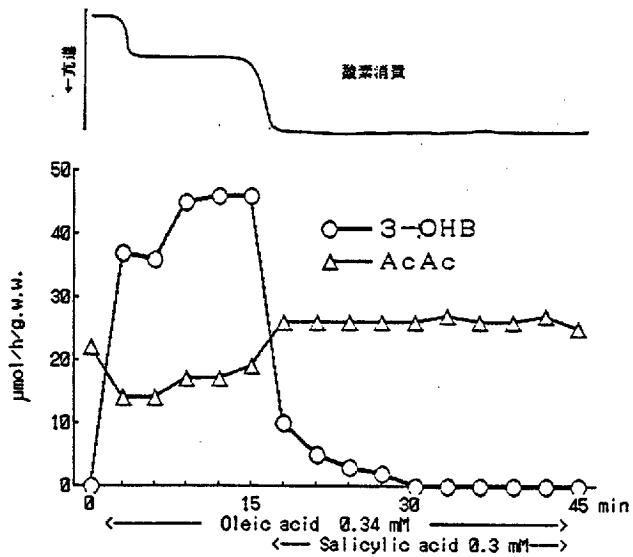


図1 サリチル酸投与時のケトン体産生と酸素消費
3-OHB: 3-hydroxybutyrate AcAc: acetoacetate
酸素消費は定量値ではない

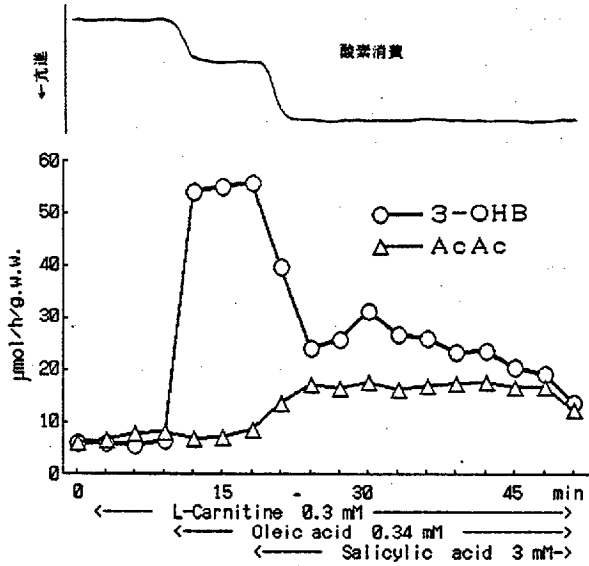


図2 サリチル酸とカルニチン投与時の
ケトン体産生と酸素消費

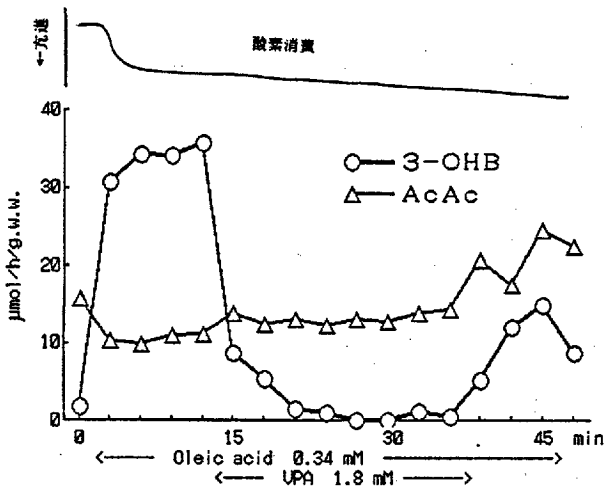


図3 バルプロ酸投与時のケトン体産生と酸素消費

文献

- 1) Thurman, R.G., et al: Eur. J. Biochem. 38:64-72, 1973
- 2) Scholz, R., et al: Eur. j. Biochem. 141, 223-230, 1984
- 3) Turnbull, D.M., et al: Biochemical Pharmacology 32, 1887-1892, 1983



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



[目的]Reye 症候群では血中の脂肪酸の異常高値や肝の脂肪変性などから脂質代謝異常の存在が強く疑われる。一方、Reye 症候群とサリチル酸の関連が疫学的に有意であるとする報告があり、サリチル酸の脂質代謝におよぼす影響については興味もたれる。サリチル酸の培養細胞に対する影響や肝ミトコンドリに対する影響についての報告は多いが、肝組織全体に対する影響についての報告は少ない。そこで我々は、摘出灌流肝を用い、サリチル酸の脂質代謝について検討を加えることにした。今回はオレイン酸を基質として、その酸化能をケトン体産生能から算定する予備的実験を行ったので報告する。