

肝疾患時の glucuron 酸抱合に関する研究

第 2 編

実験的黄疸時の glucuron 酸抱合に関する検討

岡山大学医学部第一内科教室 (主任: 小坂淳夫教授)

行 武 正 躬

【昭和43年9月30日受稿】

緒 言

Billing¹⁾ による bilirubin glucuronide の報告は、直接 bilirubin の本態がすべて bilirubin glucuronide のみであるかの感を抱かせたが glucuron 酸抱合型以外の bilirubin の存在が Isselbacher²⁾, 教室平野³⁾, 近藤⁴⁾ らによつて認められており、また塩型 bilirubin は glucuron 酸陰性であることは Talafant⁵⁾ らによつても確認されている。一方肝疾患時に glucuron 酸抱合が如何なる変動を示すかについて Schoenfield⁶⁾ らは、肝疾患時には glucuron 酸抱合能が低下することを報じ、また教室武田⁷⁾ は glucuronyl transferase 活性値の低下を認めて glucuron 酸抱合能は肝疾患時低下するとしたが、一方 Beck⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾ らは肝硬変症例に menthol を負荷することにより生成される menthol glucuronide 量を測定し肝疾患時においても glucuron 酸抱合能は低下しないと報告しており、議論がある処である。

第一編において肝疾患時における bilirubin glucuronide 分画の消長と安息香酸投与時の benzoyl glucuronide 分画の消長とを併せ検討した結果 benzoyl glucuronide 形成能は一時上昇を認めるが、肝実質障害高度となればその抱合能は低下することを認めた。

この事実をさらに確かめるため、実験的黄疸時の bilirubin glucuronide 分画並びに安息香酸投与時の benzoyl glucuronide 分画、馬尿酸の合成能の推移を検討することとした。

実験材料並びに方法

1. 実験動物

2~3 kg の雄性白色家兎を使用し、一群は3~5匹とし、実験に先立ち肝機能検査を行い、異常を

認めないものを使用した。

2. 実験方法

2.1 採血

採血は家兎耳静脈より行つた。

2.2 安息香酸負荷

Mukerjee¹¹⁾ らの兎における実験成績に基き、朝食を絶食させた家兎に安息香酸 (片山化学製) の純品 1g を経口投与し、同時に水 50ml を Levine tube にて確実に胃内に注入した。

採尿は導尿により安息香酸投与後6時間の全尿を採尿した。なおその間における排尿はすべて畜尿した。

3. Bilirubin 測定法並びに分画法

Bilirubin の定量は Jendrassik & Cleghorn 氏変法²¹⁾ を用い、Bilirubin 分画は教室小坂、原¹²⁾ の方法により、血清 bilirubin を間接 bilirubin、塩型 bilirubin、ester 型 bilirubin の3分画に分離した。一方 Eberlein¹³⁾ 法で間接 bilirubin, Pigment I, Pigment II に分画分離した。

4. Glucuron 酸定量法

石館、高林¹⁴⁾ による NaBH₄ 法で naphthorescinol picrate を用いて定量した。詳細は第一編記載の如くである。

5. 安息香酸測定法

Kingsbury-Swanson 法¹⁵⁾ にて第一編記載の如く行つた。

6. 馬尿酸測定法

緒方氏法¹⁶⁾ を用い第一編記載の如く行つた。

7. Benzoyl glucuronide 量の算定

Benzoyl glucuronide 量は安息香酸量から馬尿酸量を引いた差によつて求めた³⁹⁾。

8. 肝機能検査

膠質反応として塩化 cobalt 反応を矣田氏法¹⁷⁾ で

行い、その他ある群では Cephalin-cholesterol 絮状反応, Alkaline phosphatase (Bodansky 法), S-GOT, S-GPT (Kalmen 法) を併用した。

9. 肝障害法

9.1 四塩化炭素による肝障害法

四塩化炭素1ml を olive 油 5ml に溶解し、家兎大腿内側に注射した。注射は安息香酸投与前 2 日目にを行った。

9.2 Chloroform による肝障害法

Chloroform 0.5ml を olive 油 5ml に溶解し、家兎大腿内側に注射した。

10. 総胆管結紮法

手術前日より絶食させた家兎について、剣状突起より臍部まで正中線上で切開を加え、総胆管を確認し、二重結紮した。

実験成績

1. Bilirubin glucuronide 分画の消長

1.1 総胆管単純結紮家兎群における血清 bilirubin glucuronide 分画の消長

河原田の実験結果^(18) b)より bilirubin glucuronide は、ester 型 bilirubin 分画のみ存在することが確認されているので、ester 型 bilirubin について検討した結果は第 1 図、第 1 表に示す如くで、結紮前 bilirubin 量に対する glucuron 酸量を mol 比の形で求めたもの (以下 mol 比と略す) は 1.80 前後であるが、結紮後 1 日目平均 1.08 と速かに低下するが 3 日目以後は平均 0.90 前後を保った。

1.2 肝障害家兎群総胆管結紮後における bilirubin glucuronide 分画の消長

単純結紮群と同様に ester 型 bilirubin について

Fig. 1. Shift of molar ratios in the normal rabbits in the case given chloroform or carbon tetrachloride followed by ligating common bile duct.

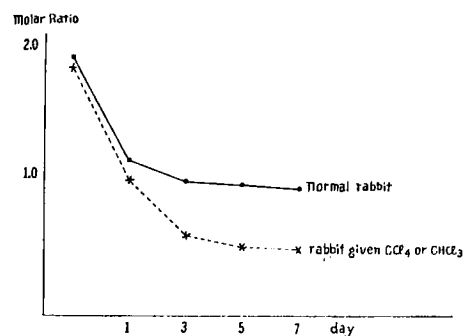


Table 1. Shift of molar ratios in the normal rabbits and the rabbits given chloroform or carbon tetrachloride followed by ligating common bile duct.

	rabbit No.	Molar Ratio				
		Before	After 1	3	5	7
normal rabbit	1	1.85	0.98	0.84	0.87	0.85
	2	1.75	1.22	1.05	1.03	0.87
	3	1.88	0.96	0.91	0.90	0.93
	4	1.70	1.17	0.94	0.91	0.92
	Average	1.80	1.08	0.94	0.92	0.89
rabbit given CCl ₄ or CHCl ₃	2	1.61	0.98	0.61	0.52	0.52
	3	1.92	0.90	0.51	0.47	0.50
	6	1.65	0.82	0.47	0.43	0.39
	8	1.87	1.17	0.67	0.54	0.48
	14	1.84	0.77	0.58	0.44	0.47
	Average	1.76	0.95	0.57	0.48	0.47

N. B. CHCl₃: Case No. 2 & 3

CCl₄: Case No. 6, 8 & 14

検討した結果は第 1 図、第 1 表の如く結紮後 1 日目平均 0.95, 3 日目以後平均 0.57~0.47 と低下した。単純結紮群に比して mol 比の下降の程度が強く且つ低値を示した。

2. Bilirubin 3 分画の消長

血清中 bilirubin を小坂, 原の bilirubin 3 分画法で分画した結果は第 2 表に示す如く単純結紮群並びに肝障害家兎総胆管結紮群とも有意の差はなく、総胆管結紮前はそれぞれ ester 型 bilirubin が、前者は 46.0~58.9%, 平均 53.8%, 後者は 45.0~59.0%, 平均 52.1% であり、塩型 bilirubin は、前者は 15.0~20.1% 平均 17.9%, 後者は 12.1~23.2%, 平均 16.9% である。間接 bilirubin は前者では 24.7~33.9%, 平均 28.3%, 後者は 27.1~37.1%, 平均 28.9% である。

Ester 型 bilirubin 分画は結紮後 1 日目は、平均 71.8%; 74.8%, 結紮後 3 日目は平均 71.2%; 70.9%, 結紮後 5 日目は平均 68.0%; 67.6%, 7 日目は 71.6%; 73.2% であつた。

塩型 bilirubin についても結紮後 1 日目平均 14.6%; 10.9%, 3 日目平均 16.5%; 14.3%, 5 日目平均 17.5%; 18.6%, 7 日目平均 16.3%; 14.7% であり、間接 bilirubin は結紮後 1 日目平均 13.6%; 15.3%, 3 日目平均 12.3%; 14.8%, 5 日目平均 14.5%; 13.7%, 7 日目平均 12.6%; 12.1% であり、両群とも結紮前後の消長に特別な傾向はみら

Table 2. Shift of indirect, salt-form and ester-form bilirubin fractions in the normal rabbits and the rabbits given chloroform or carbon tetrachloride after ligating common bile duct.

normal rabbit						rabbit given CCl ₄ or CHCl ₃				
Before	rabbit No.	Indirect	Salt	Ester	M R	rabbit No.	Indirect	Salt	Ester	M R
	1	27.4%	20.0%	52.6%	1.85	2	33.6%	21.4%	45.0%	1.61
	2	24.7	16.4	58.9	1.95	3	28.6	12.4	59.0	1.92
	3	27.2	15.0	57.8	1.88	6	37.1	12.1	50.8	1.65
	4	33.9	20.1	46.0	1.90	8	28.2	23.2	48.6	1.87
						14	27.1	15.5	57.4	1.84
Average		28.3	17.9	53.8			28.9	16.9	52.1	1.76
After	1	12.0	13.0	75.0	0.98	2	18.9	12.6	68.5	0.98
	2	12.6	21.6	65.8	1.22	3	18.8	7.1	74.1	0.90
	3	14.5	14.0	71.5	0.96	6	15.0	9.2	75.8	0.82
	4	15.2	10.0	74.8	1.17	8	11.7	8.5	79.8	1.17
						14	11.9	12.3	75.8	0.77
Average		13.6	14.6	71.8	1.08		15.3	10.9	74.8	0.95
	1	16.6	21.9	61.5	0.84	2	16.3	18.3	65.4	0.61
	2	10.6	21.7	67.7	1.05	3	14.5	13.1	72.4	0.51
	3	15.8	13.0	71.2	0.91	6	17.0	14.0	69.0	0.47
	4	6.2	9.6	84.2	0.94	8	13.6	12.6	73.8	0.67
						14	12.3	13.7	74.0	0.58
Average		12.3	16.5	71.2	0.94		14.8	14.3	70.9	0.57
	1	19.3	17.3	63.4	0.87	2	13.8	17.0	69.2	0.52
	2	12.5	15.0	72.5	1.03	3	12.5	18.5	69.0	0.47
	3	14.0	19.8	66.2	0.90	6	14.6	23.8	61.6	0.43
	4	12.1	17.9	70.0	0.91	8	11.5	17.5	71.0	0.54
						14	16.3	16.2	67.5	0.44
Average		14.5	17.5	68.0	0.92		13.7	18.6	67.6	0.48
	1	15.8	16.6	68.6	0.85	2	11.2	20.6	68.2	0.52
	2	9.5	17.1	73.4	0.87	3	11.4	16.9	71.7	0.50
	3	12.0	17.0	71.0	0.93	6	10.3	6.6	83.1	0.39
	4	13.0	14.5	72.5	0.92	8	13.1	18.4	68.5	0.48
						14	14.7	10.9	74.4	0.47
Average		12.6	16.3	71.6	0.89		12.1	14.7	73.2	0.47

Abbreviations :

Indirect	Indirect bilirubin
Salt	Salt-form bilirubin
Ester	Ester-form bilirubin
M R	Molar Ratio

れなかつた。

3. 肝障害時における小坂, 原法による血清 bilirubin 3分画と Eberlein 法による bilirubin 3分画

肝障害時における小坂, 原法による bilirubin 3分画と Eberlein 法による bilirubin 3分画との関係を比較検討する目的で, 肝障害家兎を用い総胆管結紮後, 小坂, 原法による bilirubin 3分画と Eberlein

Table 3. Comparison of Kosaka-Hara's method and Eberlein's method separating into three bilirubin fractions from serum bilirubin.

rabbit No.	day	Indirect	P ₁	P ₂	$\frac{P_1}{P_1+P_2}$	Indirect	Salt	Ester	Molar Ratio
		mg%				mg%			
2	1	0.38	1.54	0.77	0.66	0.50	0.60	1.55	0.98
3		0.76	2.77	1.59	0.64	0.80	0.30	3.15	0.90
6		0.80	2.89	1.50	0.66	1.15	0.70	5.80	0.82
8		0.65	1.80	1.48	0.55	0.55	0.40	3.75	1.17
14		0.76	2.12	2.00	0.52	0.62	0.38	4.20	0.77
Average					0.61				0.95
2	3	0.45	0.90	0.97	0.48	0.50	0.50	2.50	0.61
3		0.82	2.30	2.92	0.44	0.86	0.62	5.40	0.51
6		1.27	1.93	2.80	0.40	1.25	0.80	6.25	0.47
8		0.59	2.72	4.24	0.39	0.74	0.55	5.10	0.67
14		0.57	1.68	2.97	0.36	0.62	0.58	4.80	0.58
Average					0.41				0.57
2	5	0.25	0.43	0.77	0.36	0.36	0.44	1.80	0.52
3		0.90	2.28	2.82	0.44	0.70	0.70	4.20	0.47
6		0.92	1.60	2.65	0.37	0.94	0.76	4.75	0.43
8		0.54	1.87	2.85	0.39	0.64	0.64	4.32	0.54
14		0.62	1.51	2.63	0.37	0.85	0.75	3.60	0.44
Average					0.39				0.48
2	7	0.15	0.52	0.97	0.35	0.22	0.40	1.33	0.52
3		0.80	2.27	3.08	0.42	0.75	1.10	4.70	0.50
6		0.63	1.55	2.52	0.38	0.47	0.30	3.80	0.39
8		0.43	0.99	1.42	0.41	0.30	0.42	1.56	0.48
14		0.46	1.20	2.25	0.35	0.67	0.50	3.40	0.47
Average					0.38				0.47

Indirect ... Indirect bilirubin Salt ... Salt-form bilirubin Ester ... Ester-form bilirubin
P₁ ... Pigment I P₂ ... Pigment II

法による bilirubin 3 分画との関係は、第 3 表に示す如く、小坂、原法による 3 分画中 ester 型 bilirubin について行つた mol 比と Eberlein 法で分画した Pigment I, Pigment II とを $\frac{P_1}{P_1+P_2}$ で表したものの関係をみると mol 比は総胆管結紮後 1 日目 0.77~1.17, 平均 0.95, 3 日目は、0.47~0.67, 平均 0.57, 5 日目 0.43~0.54, 平均 0.48, 7 日目は 0.39~0.52, 平均 0.47 であり、 $\frac{P_1}{P_1+P_2}$ は結紮後 1 日目 0.52~0.66, 平均 0.61, 3 日目は 0.36~0.48, 平均 0.41, 5 日目 0.36~0.44, 平均 0.39, 7 日目 0.35~0.42, 平均 0.38 であつた。 $\frac{P_1}{P_1+P_2}$ と mol 比との間には第 2, 3 図に示す如く、顕性黄疸期では平行関係、

即ち mol 比の低下, Pigment II 分画の上昇が認められた。

4. 血清 bilirubin glucuronide 分画と肝機能との関係

肝障害家兎総胆管結紮後の塩化 cobalt 反応は第 7, 8 図の如くで、結紮後 1 日目は R₃ であるが漸次 R_{4~5} と障害の高度化を認めた。膠質反応と mol 比との関係は第 4 図の如くで、膠質反応としての塩化 cobalt 反応が表す肝機能障害度を R_{2~5} (-), R_{3~4} (±), R₄ (+), R₅ (++) とすると、肝障害が (±) 程度では mol 比は 1.0~0.8 を示した。肝障害が (+) 以上の時は mol 比は殆んど 0.8 以下であり、肝障害の認められない例では mol

Fig. 3. Shift of molar ratio and Pigment I/Pigment I + Pigment II

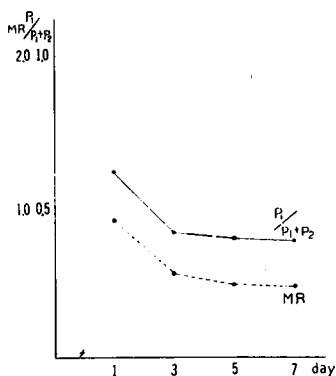


Fig. 2. Relation between molar ratio and Pigment I/Pigment I + Pigment II

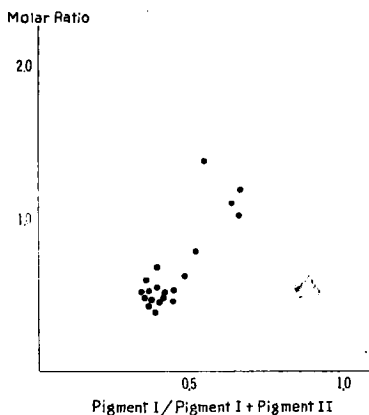


Fig. 4. Relation between molar ratios and colloid reaction in icteric stage of various liver damage.

MR	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4	1.6	1.8	2.0
-							×	×		×
+				○ ●	○ ● ×	○		×		
+	○	○ ●	○ ●	○ ● ×	○ ● ×	●				
+		○ ●	○ ●	○ ●						
+										

X No Treatment O CHCl₃ ● CCl₄

Table 4. Shift of cobalt reaction before and after ligating common bile duct.

Rabbit No.	Cobalt Reaction (R)					
	Before	1 Day	3 Day	5 Day	7 Day	9 Day
1	2~3	3	3~4	4	4~5	
2	3	3~4	4	4	4~5	
3	3	4	5	5~6	6	6
9	3	4	4~5	5	4	3~4
16	3	3~4	3~4	4	4~5	

Abbreviations : Before before ligating common bile duct
After after ligating common bile duct

比は1.2以上であつた。なお単純結紮時の塩化 cobalt 反応の経日的変化は第4表の如くである。

5. Benzoyl glucuronide 分画と膠質反応

肝障害家兎群に総胆管結紮後、安息香酸投与による尿中 benzoyl glucuronide 量と膠質反応として行つた塩化 cobalt 反応との関係は第5図に示す如くであり、肝障害度の上昇に従つて、benzoyl glucuronide 量の低下が認められた。

6. 総胆管結紮家兎の総 bilirubin, 直接 bilirubin, mol 比, 及び肝機能の消長

6. 1 単純結紮家兎群

総胆管単純結紮家兎群の血清 bilirubin, mol 比及び肝機能検査の消長の関係は第6図に示す例の如く、総胆管結紮後 bilirubin 値は急速に上昇し、結紮後5日目頃に最高値に達し、その後低下する。Mol 比は総胆管結紮後1日目急速に1.09前後に低下するが、3日目以後はほぼ1.0前後の値を維持する。塩化 cobalt 反

Fig. 5. Relation between benzoyl glucuronide and cobalt reaction in the case given carbon tetrachloride.

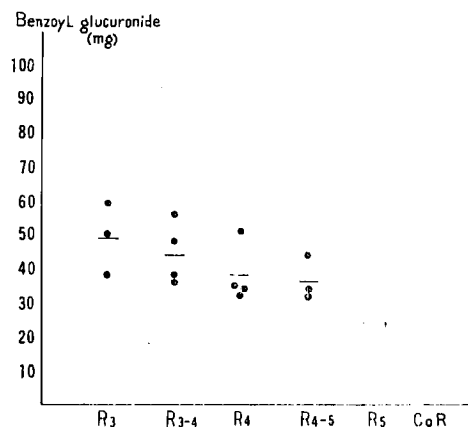


Fig. 6. Relation between molar ratio and liver function test in the case of ligating common bile duct.

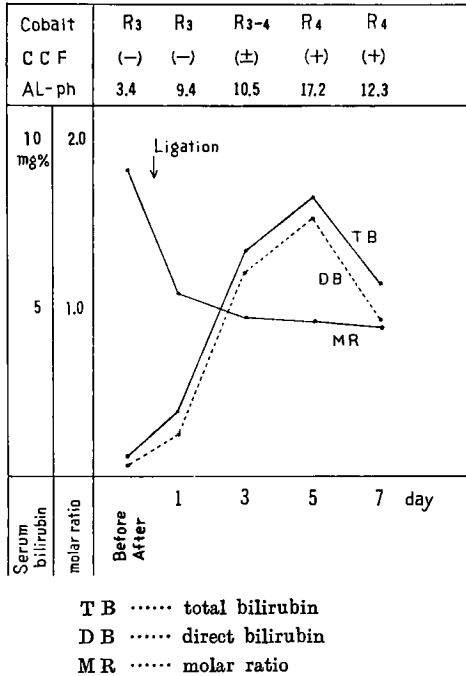


Fig. 7. Relation between molar ratio and liver function test in the case given chloroform followed by ligating common bile duct.

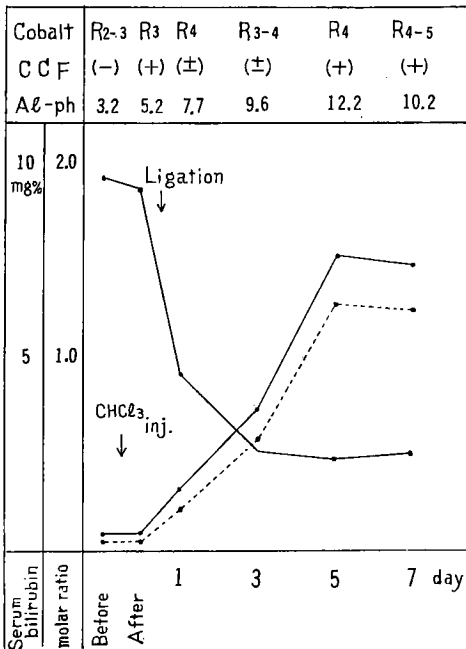
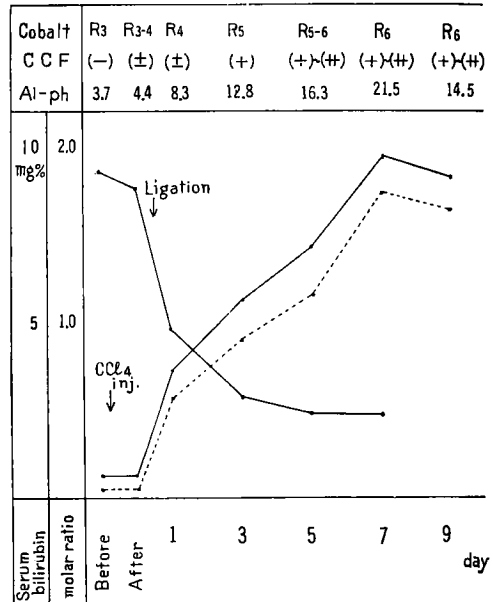


Fig. 8. Relation between molar ratio and liver function test in the case given carbon tetrachloride followed by ligating common bile duct.



応及び cephalin-cholesterol 架状反応は3日目以後軽度陽性を示し、その程度は(+)程度に止つた。

6. 2 肝障害家兔群

Chloroform 並びに四塩化炭素による肝障害家兔に総胆管結紮を行つた際の血清 bilirubin 値, mol 比および肝機能検査の消長を各一例示すと第7, 第8図の如くで、両者ともほぼ同様の経過を示した。血清 bilirubin 値は総胆管結紮後5~7日目に最高値を示し, mol 比は単純結紮例より低値を示し, 総胆管結紮後1日目0.90~0.95程度となりその後も漸次低下した。同時に行つた塩化 cobalt 反応及び CCF も, 単純結紮例より高度障害が認められた。

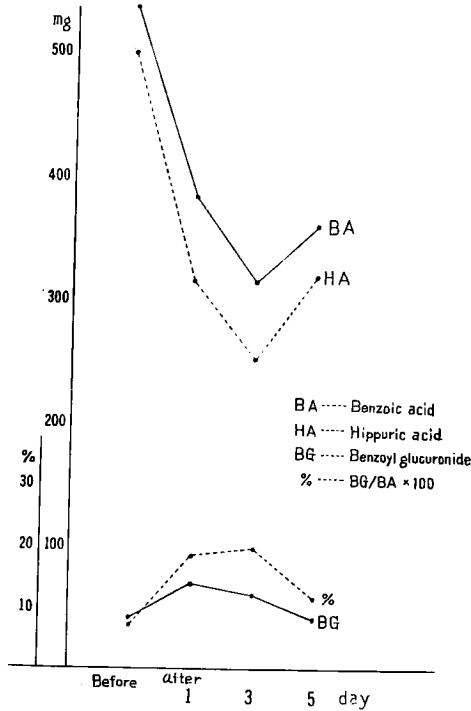
7. 総胆管結紮家兔に安息香酸投与後、尿中に排泄される安息香酸、馬尿酸並びに benzyl glucuronide 分画の消長

7. 1 単純結紮家兔群

総胆管結紮前には総安息香酸の尿中排泄量は第9図, 第5表に示す如く 446mg~649mg, 平均 541mg であつた。結紮後1日目 327mg~470mg, 平均 384mg, 3日目 143mg~466mg, 平均 313mg と最低値を示し, 5日目は 217mg~501mg, 平均 360mg と増加した。

馬尿酸排泄量は結紮前405mg~590mg, 平均 500mg, 結紮後1日目 245mg~387mg, 平均 313mg, 3日目

Fig. 9. Shift of urinary excretion of benzoic acid, hippuric acid and benzoyl glucuronide followed by benzoic acid administration before and after common bile duct ligation.



108mg~417mg, 平均 251mg で最低値を示し, 5 日目 174mg~439mg, 平均 319mg と増加した. 安息香酸排泄量と馬尿酸排泄量とは, ほぼ平行関係がみられた.

Benzoyl glucuronide 量は結紮前 19mg~59mg, 平均 41mg, 結紮後 1 日目 57mg~83mg, 平均 71mg と増加したが 3 日目 35mg~95mg, 平均 62mg, 5 日目 27mg~62mg, 平均 41mg と低下した.

総安息香酸に対する benzoyl glucuronide 量を百分率で求めると結紮前 5.0~11.6%, 平均 7.6%, 結紮後 1 日目 14.3~25.1%, 平均 18.5%, 結紮後 3 日目 10.6~33.9%, 平均 19.8%, 結紮後 5 日目 7.4~19.8%, 平均 11.1% を示した.

7. 2 肝障害家兎群

肝障害家兎群における総胆管結紮後尿中に排泄される安息香酸, 馬尿酸並びに benzoyl glucuronide 量の消長は第10図, 第6表に示す如く, 総胆管結紮後, 安息香酸排泄量は 1 日目 265mg~369mg, 平均 309mg, 3 日目 165mg~378mg, 平均 293mg と低下し, 5 日目 237mg~316mg, 平均 278mg と最低

Table 5. Shift of urinary excretion of benzoic acid, hippuric acid and benzoyl glucuronide followed by benzoic acid administration before and after ligating common bile duct.

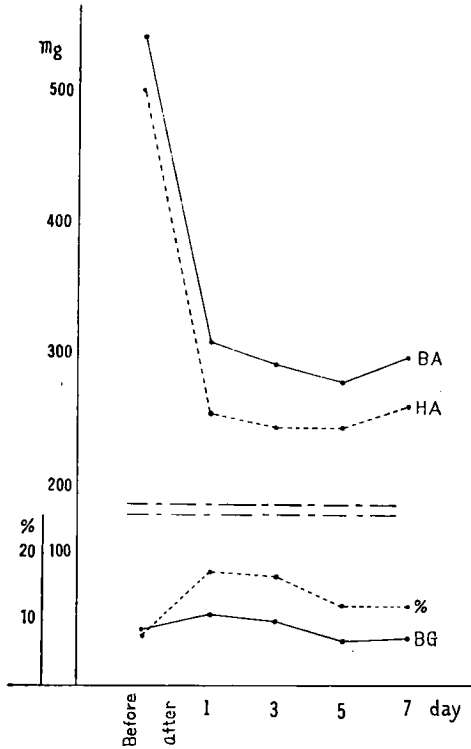
day	Rabbit No.	BA	HA	BG	%
Before	1	458	405	53	11.6
	2	483	435	48	10.0
	3	446	427	19	5.0
	4	630	588	42	7.3
	5	582	556	26	4.5
	6	649	590	59	9.3
	Average		541	500	41
After 1	1	327	245	82	25.1
	2	361	293	68	18.8
	3	341	281	60	17.6
	4	399	342	57	14.3
	5	406	330	76	18.7
	6	470	387	83	17.7
	Average		384	313	71
3	1	280	185	95	33.9
	2	323	257	66	20.4
	3	143	108	35	24.5
	4	466	417	49	10.6
	5	308	261	47	15.3
	6	355	275	80	22.5
	Average		313	251	62
5	1	269	236	33	12.3
	2	366	339	27	7.4
	3	501	439	62	12.4
	4	217	174	43	19.8
	5	354	312	42	11.9
	6	453	416	37	8.2
	Average		360	319	41

Abbreviations: BA benzoic acid, HA hippuric acid
BG benzoyl glucuronide

値を示し, 単純結紮例よりもかなり低値であつた. 7 日目 285mg~313mg, 平均 298mg と増加した. 肝障害家兎群では単純結紮家兎群に比し明らかに排泄量の減少及び回復の遅延を認めた.

馬尿酸排泄量は結紮後 1 日目 219mg~304mg, 平均 256mg, 3 日目 132mg~330mg, 平均 245mg と最低値を示し, 5 日目 217mg~274mg, 平均 246mg とほぼ同水準を保ち, 7 日目 252mg~281mg, 平均

Fig. 10. Shift of urinary excretion of benzoic acid, hippuric acid and benzoyl glucuronide in the case given carbon tetrachloride followed by benzoic acid administration before and after common bile duct ligation.



262mg と増加した。馬尿酸量と総安息香酸量の消長は単純結紮群と同様ほぼ平行関係が認められた。

Benzoyl glucuronide 量は結紮後 1 日目 46mg~65mg, 平均 53mg と増加し, 3 日目 33mg~58mg, 平均 48mg と同水準を保ち, 5 日目に 20mg~42mg, 平均 33mg と低下し, 7 日目 32~44mg, 平均 36mg であった。

Benzoyl glucuronide 量は単純結紮群に比して, いずれの時期においても低値を示した。

総括並びに考案

肝疾患時における bilirubin 代謝, 殊に bilirubin 量の増加した顕性黄疸時の bilirubin 代謝がいかに行われるかは興味ある処であり, 激症型である急性黄色肝萎縮症において直接 bilirubin が増量することは注目値する。教室河原田¹⁸⁾はこのような黄疸時の血清では bilirubin glucuronide 分画が比較的な減少をみるが, 山岡, 小坂らのいう ester 型 bili-

Table 6. Shift of urinary excretion of benzoic acid, hippuric acid and benzoyl glucuronide in the case given carbon tetrachloride followed by benzoic acid administration before and after ligating common bile duct.

day	Rabbit No.	BA	HA	BG	%
1	1	369	304	65	17.6
	2	297	247	50	16.8
	3	323	276	47	14.6
	4	265	219	46	17.4
	5	293	235	58	19.8
Average		309	256	53	17.2
3	1	317	259	58	18.3
	2	263	207	56	21.3
	3	340	297	43	12.6
	4	378	330	48	12.7
	5	165	132	33	20.0
Average		293	245	48	16.4
5	1	237	217	20	8.4
	2	268	235	33	12.3
	3	293	259	34	11.6
	4	277	243	34	12.3
	5	316	274	42	13.3
Average		278	246	33	11.9
7	1	313	281	32	10.2
	2	285	252	33	11.6
	3	297	253	44	14.8
Average		298	262	36	12.1

Abbreviations : BA benzoic acid, HA hippuric acid, BG benzoyl glucuronide

rubin 分画は減少しないことを認めており, glucuron 酸抱合以外の抱合, 解毒機序により間接 bilirubin が直接 bilirubin に転換を受けていることを示すものと考えた。

教室物部¹⁹⁾, 近藤²⁰⁾, 河原田¹⁸⁾らは黄疸時における bilirubin glucuronide を bilirubin 量に対する glucuron 酸量を mol 比の形 (以下 mol 比) で求めることにより, mol 比と肝機能としての膠質反応障害度との間に良好な相関性があること, また mol 比よりして, かなりの量の bilirubin glucuronide 以外の分画が存在することを認めている。

肝障害時における glucuron 酸抱合については menthol¹⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾²²⁾, n-acetyl-p-aminopheno²³⁾, salicyla-

mide²⁴⁾, acetanilid²⁵⁾, 珪皮酸, 安息香酸²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾, phenolphthalein²⁹⁾等を用いた報告があり, ある者は抱合機能の亢進²⁹⁾, 又は不変⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾を, また或る者は低下²⁴⁾²⁵⁾を認めており, 一致した見解が得られていない。また肝障害時の実験としては, 燐や一部肝葉の凍結による Nasarijanz の実験³⁰⁾や, 四塩化炭素, chloroform 障害時のものなどが抱合能の低下を認めている。また Chojecki & Kern³¹⁾は四塩化炭素による肝障害 rat における実験で bilirubin と phenolphthalein とで glucuron 酸抱合度が異なることより, glucuron 酸抱合にあずかる酵素, glucuronyl transferase には 2 種類のもの存在するのではないかとしている。

1946年 Snapper²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾らは安息香酸投与後, 肝臓で抱合されて尿中に排泄される馬尿酸並びに benzoyl glucuronide の消長を検討し, 正常状態でも安息香酸はすべて glycine 抱合型として排泄され得ないで, glucuron 酸抱合の型で一部代償されて排泄されることを認めた。然しながら肝障害時これらの抱合型がどのように変化するかについては何ら検討されていない。そこで肝疾患時の glucuron 酸抱合能を bilirubin については, 血清 bilirubin 量に対する glucuron 酸量の比, 即ち mol 比で求めることにより, また他の抱合能は安息香酸投与時における尿中 benzoyl glucuronide を測定することにより, それぞれ検討してみると, 肝疾患時の極期では mol 比の低下, benzoyl glucuronide 量の減少を認めた。これは Beck⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾らの肝硬変症でも bilirubin の glucuron 酸抱合は低下しないとの臨床成績とは異なり, benzoyl glucuronide 形成能は亢進するが, 限度が存在すること, 更に四塩化炭素または chloroform による肝障害においてその程度が高度の場合, benzoyl glucuronide 量はより低値を示すことを認め, acetanilid を用いた慢性肝炎, 肝硬変症群では glucuron 酸抱合低下を来すとする Hammar & Prellwitz²⁶⁾の成績, menthol を用い glucuron 酸抱合能を検討し, 非顕性黄疸期では, その抱合能に障害はないが顕性黄疸時では低下すると Nasarijanz²²⁾の成績とよく一致し, 第一編において急性, 慢性肝炎, 肝硬変症の非顕性黄疸期では glucuron 酸抱合の低下は認められないが, 黄疸期では低下を来すとす臨床成績ともよく一致する。

また benzoyl glucuronide 量と mol 比との関係では, 黄疸が高度となると benzoyl glucuronide 量が一時的に増量するが, その後低下し, 両者の間には平行関係は認められなかつた。第 2 次抱合としての

glucuron 酸抱合による benzoyl glucuronide 生成は, 早期では亢進しえても極期に至れば, すでに代償しえず, その能力も限度があると考えられる。

Mol 比と膠質反応との間には, 臨床例の場合と同様により相関が認められ, この成績は河原田¹⁸⁾²⁾の結果とよく一致した。

馬尿酸排泄量は諸家の報告³²⁾³³⁾³⁴⁾³⁵⁾と一致し, 肝実質機能低下時に減少することが認められた。

Billing³⁶⁾は直接 bilirubin を Pigment I と Pigment II に分画し, 更に Eberlein¹³⁾は簡便化した bilirubin 3 分画法を提唱し, その臨床的有意性を明らかにしている。そこで Eberlein 法により得られた P_1/P_1+P_2 と mol 比との関係を検討してみると, 顕性黄疸期では両者の間に, かなりよい平行関係が認められた。但しその時期は本実験では, 単純な薬物による肝障害後の胆管結紮例についてであるため Pigment II 分画が増量したため p_1/P_1+P_2 は低下したものと考えられる。一般に P_1/P_1+P_2 は膠質反応と正の相関をもつと考えられるべきであるにもかかわらず mol 比と同様負の相関を示したことより肝実質機能検査との関係では mol 比は有用であるが P_1/P_1+P_2 は有意義とは考えられない。即ち Pigment I, Pigment II 分画そのものの疑義も加わつて⁶⁾¹⁸⁾²⁰⁾³⁷⁾³⁸⁾, 膠質反応との関係を求める際は, mol 比の方が肝疾患時の状態をより直接的に示す有意義な指標であることとなり, 河原田の成績と一致した。

結 論

総胆管結紮を行つて実験的黄疸を起した成熟雄性白色家兎について bilirubin glucuronide 分画並びに安息香酸投与時の benzoyl glucuronide 分画, 馬尿酸の合成能の推移について検討して次の成績を得た。

1. 総胆管単純結紮家兎の血清 bilirubin 量に対する glucuron 酸量の比を mol 比で求めてみると結紮後, 低下するが 3 日目以後もなお 1.0 前後の値を維持した。

肝障害家兎群では mol 比は単純結紮例より低値を示し, 結紮後 3 日目以後も 0.55~0.45 程度まで低下した。なお chloroform 障害と四塩化炭素障害群との間に殆んど差は認められなかつた。

2. 単純結紮例および肝障害家兎群では, 小坂, 原の 3 分画法では bilirubin 3 分画間に有意の差は認められず, ester 型 bilirubin が大部分を占め, 結紮後の消長では特異な傾向は認められなかつた。

3. 血清 bilirubin 中の ester 型 bilirubin につ

いて求めた mol 比と膠質反応障害度との間にはよい相関性を認めた。

4. 肝実質障害が (+) 以上の時, mol 比は殆んど 0.8 以下であり, mol 比が 1.2 以上の場合肝障害が認められる例は殆んどなかった。

5. 安息香酸投与試験では, 単純結紮群においては結紮後 3 日目に最低値 (安息香酸および馬尿酸排泄量) を示し, 5 日目には回復の傾向を認めた。

benzoyl glucuronide は結紮後増量するが, 安息香酸, 馬尿酸の排泄量が最低となる際にはすでに低下の傾

向を示した。

副抱合としての glucuron 酸抱合の代償作用も限度があることを示すものと考えられる。

肝障害家兎群では単純結紮家兎群より安息香酸の排泄量は低値を示し, benzoyl glucuronide 量も単純結紮群に比し低値で, 肝実質障害が強くなればより代償作用は低下すると思われる。

(稿を終えるにあたり, 小坂教授, 近藤講師の御指導に深謝いたします。)

文 献

- 1) Billing, B. H. & Lathe, G. H.: *Biochem. J.* **63**, 69, 1956.
- 2) Isselbacher, K. J. & McCarthy, E. A.: *Biochem. Biophys. Acta* **29**, 658, 1958.
- 3) 平野: 岡山医学会雑誌, **72**, 1723, 1960.
- 4) 近藤: 日消誌, **63**, 513, 1966.
- 5) Talafant, E.: Personal communication to Dr. Sakamoto.
- 6) Schoenfield, L. J., Grindlay, J. H., Foulk, W. T. & Bollman, J. L.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **106**, 438, 1961.
- 7) Taketa, K.: *Acta medicinae Okayama* **16**, 115, 1962.
- 8) Beck, K., Richter, E. & Kiani, B.: *German Medical Monthly* **10**, 318, 1965.
- 9) Beck, K. & Kiani, B.: *Klin. Wschr.* **38**, 428, 1960.
- 10) Bech, K., Schubothe, H. & Bauman, G.: *Klin. Wschr.* **40**, 1041, 1962.
- 11) Mukerjee, S. S. & Mukerjee, S. K.: *Ann. Biochem. Exp. Med.* **20**, 233, 1960.
- 12) 原: 医学研究, **22**, 536, 1952.
- 13) Eberlein, W. R.: *Pediatrics* **25**, 878, 1960.
- 14) 石館, 高林: 第 2 回グルクロン酸研究会.
- 15) Kingsbury, F. B. & Swanson, W. W.: *J. Biol. Chem.* **48**, 13, 1921.
- 16) 緒方, 杉山: 岡山医学会雑誌, **74**, 255, 1962.
: 産業医学, **4**, 9, 1962.
- 17) 矣田: 内科宝函, **3**, 519, 1956.
- 18) 河原田: 医学研究, a) **37**, 188, 1967.
b) **37**, 200, 1967.
- 19) 物部: 岡山医学会雑誌, **71**, 6399, 1959.
- 20) 近藤: 第 III 回世界消化器医学会議.
- 21) Jendrassik, L. & Cleghorn, R. A.: *Biochem. Z.* **289**, 1, 1936.
- 22) Nasarijanz, B. A.: *Schweiz. Med. Wschr.* **48**, 1090, 1934.
- 23) Dutton, G. J.: *Biochem. J.* **71**, 141, 1959.
- 24) Taketa, K.: *Acta medicinae Okayama* **16**, 129, 1962.
- 25) Hammar, C. H. & Prellwitz, W.: *Klin. Wschr.* **44**, 1010, 1966.
- 26) Snapper, I., Greenspan, E. & Saltzman, A.: *Am. J. Dis.* **13**, 275, 1946.
- 27) Snapper, I. & Saltzman, A.: *J. Mt. Sinai Hosp.* **15**, 64, 1948.
- 28) Snapper, I., Saltzman, A. & Greenspan, E.: *Am. J. Digest Dis.* **13**, 341, 1946.
- 29) Brown, A. K. & Zuelzer, W. W.: *J. Clin. Invest.* **37**, 332, 1958.
- 30) Nasarijanz, B. A.: *Zsch. f. dges. exp. Med.* **80**, 11, 1931.
- 31) Chojecki, Z. & Kern, F. J.: *Gastroenterology* **40**, 521, 1961.
- 32) Guick, A. J.: *Am. J. Digest Dis.* **6**, 716, 1939. : *Am. J. med. Sci.* **185**, 630, 1933.
- 33) 伊藤: 臨床病理, **5**, 249, 1959.
- 34) Sharnoff, J. G., Budnick, M. & Jakab, G.: *Am. J. Clin. Path.* **21**, 234, 1951.
- 35) 石山: 東京医会誌, **56**, 991, 昭17.
- 36) Cole, P. G., Lathe, G. H. & Billing, B. H.: *Biochem. J.* **57**, 514, 1954.
- 37) Weber, A. P., Schalm, L. & Witman, J.: *Acta Med. Scand.* **173**, 19, 1963.
- 38) Gregory, C. H. & Watson, C. J.: *J. Lab. & Clin. Med.* **60**, 17, 1962.

39) Snapper, I. & Saltzman, A. *Am. J. Med.* 2, 327, 1947.

Studies on Glucuronide Formation in Liver Diseases

Part II Observation on the Glucuronide Formation under the Condition of Experimental Jaundice

By

Masami YUKUTAKE

The First Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyowo Kosaka)

ABSTRACT

The icteric male rabbits produced through ligation of common bile duct were employed for investigating not only the shifts of serum bilirubin glucuronide fraction but the change of formation of benzoyl glucuronide or hippuric acid after administration of benzoic acid and the following results were obtained.

1. The molar ratio of glucuronic acid to bilirubin in the serum decreased by ligating the common bile duct, however, the ratio kept on nearly 1.0 even later than the 3rd day in the normal rabbits, while, the molar ratio in the rabbits with liver injury were more markedly depressed as compared to normal group and kept the value 0.55—0.45. The liver injury with chloroform and that with carbon tetrachloride showed no difference in the molar ratio.

2. No significant difference in 3 fractions of bilirubin fractionated by the method of Kosaka-Hara was found between normal rabbits and rabbits with liver injury after common bile duct ligation; almost all were equally occupied with ester form bilirubin, besides, no change could also be observed by the duration after common bile duct ligation.

3. The good correlation was found between molar ratio of glucuronic acid contained in ester form bilirubin to ester form bilirubin in serum and the grade of disturbance of the serum colloidal reaction.

4. In case that the grade of liver injury showed more than (+), molar ratio revealed less than 0.8, on the other hand, no liver injury was found in the cases with 1.2 or more.

5. When benzoic acid was given to the normal rabbits with ligated common bile duct the excretion of benzoic acid or hippuric acid became minimum after 3 days and showed some recovery after 5 days, while, the excretion of benzoyl glucuronide increased after ligation of common bile duct, however, already revealed the tendency to decrease when the excretion of benzoic acid or hippuric acid reach minimum. It was considered from this results that a limitation seemed to exist in the substitutional effect of glucuronic acid conjugation. On the other hand, not only the excretion of benzoic acid but that of benzoyl glucuronide was diminished in the rabbits with liver injury as compared to normals, then it was concluded that the substitutional effect of glucuronic acid conjugation impaired in the case of liver injury.

Acknowledgment

I wish to express my appreciation to Prof. Kiyowo Kosaka and Dr. Tadasuke Kondo for their excellent instruction.