〈原 著〉

肝障害時の脳機能に対する Pyrimidine Nucleoside の効果

佐藤 八郎 橋本 修治 恒成 政生*

1. ま え お き

肝疾患に際して意識障害を含むいろいろの精神神経症状が認められることは古くから注目されているところであるが、このような中枢神経機能異常が中間代謝におけるいかなる障害に基いて惹起されるかについては、今日なお意見の一致をみるに至らず、含窒素物質（アンモニア、アミン類）、ケト酸、低級脂肪酸などの停滞や K^+ の欠乏、その他いろいろの因子が挙げられている現状である。しかしながら各種の代謝経路は相互に絡み合っており、実際に単一の中間代謝障害によつて脳機能が侵される場合はむしろ少なく、たとえば Potter ら¹⁾ の実験成績から類推すると、アンモニア停滞の際には TCA cycle における α -ketoglutarate から succinate への酸化が阻害される可能性が考えられ、このように中間代謝の一部に障害が起こるとそれが次々に他の代謝面の障害を基因し、ついには脳の機能が正常に営まれえないような状態に陥るものと考えられる。

われわれは pyrimidine nucleoside が肝障害に対して有効なことを認め、すでにその成績の一部を発表した^{2, 3)} が、肝障害時のアンモニア代謝、amine oxidase その他 2, 3 の酵素活性および脳機能に対しても、これらを是正、賦活する効果を認めたので、以下に報告する。

2. 実 験 成 績

実験 I. 慢性 CCl_4 障害 rat の肝、脳内諸酵素に対する影響

1. Uridine に関する実験：体重 200 g 前後の Wistar

系成熟 rat を実験に用い、実験期間中、小麦 15、粟 5、とうもろこし 1、魚粉 1 の割合の混合飼料を自由に摂取させた。これに毎週 1 回 CCl_4 0.8 g/kg ずつ腹腔内注射して慢性肝障害を起こさせるとともに uridine を 10 mg/kg/day ずつ飼料とともに経口投与してその経過に及ぼす影響を観察した。

脳の特異性 choline esterase (Ch. E.) 活性（宮崎-Hesterin 法⁴⁾）は対照群では第 1～2 週に著しく下降し、その後常値にもどる傾向がみられるが、uridine 投与群ではおおむね対照群より高い活性値を示す（図 1）。

図 1. Changes of Ch. E. activity in brain of CCl_4 -damaged rat

Monoamine oxidase 活性（芦川の法⁵⁾）は肝でも脳でも第 6 週以後増加する傾向があり、uridine 投与群では肝でも脳でも全経過を通じて対照群より高い活性を示す。

Diamine oxidase 活性（芦川の法⁵⁾）は肝でも脳でも低下し、第 6～8 週には回復の傾向を示すが、uridine 投与群は肝では対照群とあまり差がないが、脳では明らかに対照群より高い値を示す。

* H. Sato (教授), S. Hashimoto, M. Tsunenari :
鹿児島大学医学部佐藤内科。

図 2. Influences of uridine upon the amine oxidase activities of rat organs

図 3. Influences of cytidine upon the amine oxidase activities of rat organs

2. Cytidine に関する実験: 体重 150g 前後の Wistar 系 rat を実験に用いた。すなわち前述の実験に用いた rat よりやや若い。amine oxidase 活性の推移が前述の実験成績と異なるのはそのためかも知れない。飼料は前実験と同じものを自由に摂取させ、同様に慢性 CCl_4 肝障害を起こさせるとともに、cytidine を 10 mg/kg/day ずつ飼料とともに経口摂取させ、その経過に及ぼす影響を観察した。

肝では monoamine oxidase, diamine oxidase ともにはじめ活性が低下した後常値にもどる傾向があるが、cytidine 投与群では対照群に比べて活性の変動が小さい。脳では monoamine oxidase は第 4 週以後、diamine oxidase は第 6 週一時的に活性が上昇するが、cytidine 投与群では一定の影響が認められない。

Ornithine carbamyl transferase (OCT) 活性 (Reichard and Reichard 法⁶⁾) は第 2~4 週に肝では下降、血清では上昇し、その後いずれも常値にもどるが、cytidine 投与群では肝、血清いずれも対照群に比べて活性変動の程度が軽い (図 4)。

図 4. Changes of ornithine carbamyl transferase activities in liver and serum of CCl_4 -damaged rats

実験 II. 肝疾患患者のアンモニア処理能に及ぼす影響

慢性肝疾患患者数例に NH_4Cl 3g を経口投与して高アンモニア血症を起こさせるとともに、uridine または

図 5. 肝疾患患者アンモニア処理能に及ぼす pyrimidine nucleoside の影響

cytidine を静脈内注射して、血中アンモニア値の推移に及ぼす影響を検討した(図5)(アンモニアの測定はConway法^{7,8)}によつた)。

Uridine (30 mg) を使用した2例ではいずれも血中アンモニア値の回復が促される傾向がみられた。しかし cytidine (90 mg) を使用した3例ではいずれも血中アンモニア値の推移に著しい影響が認められなかった。

実験 III. 肝疾患患者の脳波に対する影響

肝疾患患者では昏睡の場合はもちろん、精神神経症状

がななら認められない場合でも非肝疾患患者に比べて脳波に徐波の現われる頻度が高い(表1)。各種肝疾患患者に uridine または cytidine 30 mg を静脈内注射した後、脳波の変化を経時的に観察したところ、あまり影響のない場合もあるが、おおむね注射の1分ないし10分後にかけて δ 波、 θ 波の減少と α 波の増加を起こさせる傾向が認められた(表1)。すなわち uridine, cytidine は肝疾患患者の脳波の周波数を増加させる作用があり、これは脳機能の賦活を意味するものと考えられる。

表 1. Influences of uridine and cytidine on EEG of patients of liver diseases
(Intravenous injection)

Name	Age, Sex	Diagnosis	Frequency analysis of EEG				
			δ_1	θ	α	β_1	β_2
K. K.	56, ♀	Ménière syndrome	8.8%	11.7%	61.7%	11.6%	6.2%
M. M.	30, ♂	Rhinitis	17.2	16.3	33.9	14.8	17.8
A. T.	35, ♀	Migraene	13.8	17.4	47.6	8.3	12.9

Name	Age, Sex	Diagnosis	Uridine 30 mg	Frequency analysis of EEG				
				δ_1	θ	α	β_1	β_2
K. H.	47, ♂	Hepatitis chronica	Before inj.	22.7%	22.7%	28.0%	13.6%	13.0%
			After 1 min	25.3	24.5	28.6	8.1	13.6
			" 3 "	21.1	22.6	29.9	13.2	13.2
			" 7 "	22.7	21.8	30.2	13.6	11.7
H. H.	68, ♂	Fatty liver	Before inj.	24.1	23.2	20.4	16.7	15.7
			After 1 min	20.3	23.0	26.0	16.3	15.4
			" 3 "	20.0	22.1	21.1	18.9	17.9
			" 5 "	17.5	20.0	27.5	17.5	17.5
K. F.	20, ♀	Hepatitis	Before inj.	25.0	20.8	26.0	13.0	15.2
			After 1 min	20.8	22.9	32.6	13.4	13.3
			" 3 "	20.0	21.6	23.0	20.0	15.4
			" 5 "	22.0	20.5	28.5	14.0	15.0

Name	Age, Sex	Diagnosis	Cytidine 30 mg	Frequency analysis of EEG				
				δ_1	θ	α	β_1	β_2
S. Y.	31, ♀	Banti's disease	Before inj.	28.7%	28.1%	19.4%	17.3%	6.5%
			After 1 min	30.2	24.4	21.5	15.7	8.2
			" 6 "	28.5	19.1	23.8	16.8	11.8
			" 10 "	24.3	22.3	23.0	16.4	14.0
E. N.	47, ♂	Liver cirrhosis	Before inj.	16.8	18.4	32.9	16.8	15.1
			After 1 min	20.9	18.0	32.2	16.0	12.9
			" 3 "	18.5	17.5	34.0	13.5	16.5
			" 5 "	18.1	20.7	31.8	14.9	14.5
Y. F.	44, ♂	Liver cirrhosis	Before inj.	38.1	29.0	18.0	11.6	3.3
			After 1 min	39.5	27.8	20.1	5.1	7.5
			" 3 "	32.8	25.6	20.0	12.5	10.1
			" 5 "	27.5	17.3	25.7	15.3	14.2

3. 臨 床 成 績

第 1 例. Y. A. (59 歳, ♂): 肝硬変症の経過中に高アンモニア血症とともに精神症状(異常行動)をきたした

例で, uridine 30 mg を静脈内注射したところ, 一過性に血中アンモニアが下降した(注射前 2.2 γ /ml, 注射後 30 分 1.8 γ /ml, 60 分 1.3 γ /ml, 120 分 1.2 γ /ml). またこれに伴って脳波の徐波が減少した(脳波の平均周波

数注射前 2.6 c/sec, 注射直後 3.2 c/sec, 30 分後 3.4 c/sec, 60 分後 3.6 c/sec, 120 分後 4.0 c/sec).

第2例. N.K. (17歳, ♀), 肝レンズ核変性症: 四肢震顫, 筋強剛, 構語障害など錐体外路系症状とともに肝機能障害, 出血性傾向, 銅代謝障害を示した例で, 肝生検で肝細胞変性, 核消失を認めたが硬変像はなかつた. これに uridine を 60 mg/day, 60 日間投与したところ, BSP test 30 分値がやや好転 (3.4%→1.0%) したが, 血清コロイド反応にはほとんど変化がなく, 精神神経症状にも影響がなかつた.

第3例. N.I. (17歳, ♂), 肝レンズ核変性症: 上記症例と同様の錐体外路系症状および肝機能障害, 銅代謝障害を示すとともに, 肝生検で銅の沈着と軽度の肝細胞変性が認められた. これに penicillamine を 0.6~1.2 g/day, 58 日間 (総量 34.2 g) 内服させたが著変がみられなかつた. 次に cytidine を 60 mg/day, 46 日間投与したところ, 血清の銅および PPD oxidase 活性の上昇と, 尿中銅排泄量の減少, 血清アミノ・Nの増加とともに, 生検上, 肝細胞変性の軽減が認められた(表2). しかし, 神経症状には影響がみられなかつた.

表2. N.I. (17歳, ♂), 肝レンズ核変性症
(Cytidine 60 mg/day 静脈内注射, 46 日間)

		Before treatment	After treatment
Copper (Gubler- Cartwright)	In serum	0.237 γ /ml	0.942 γ /ml
	In urine	387~1335 γ /day (Av. 714 γ /day)	122~895 γ /day (Av. 404 γ /day)
PPD oxidase activity in serum (Ravin)		0.117 γ /ml	0.271 γ /ml
Amino-N (Folin)	In serum	85 γ /ml	155 γ /ml
	In urine	176~396 mg/day (Av. 302 mg/day)	138~514 mg/day (Av. 291 mg/day)

第4例. T.O. (59歳, ♂): 転移性肝癌の末期に高度の黄疸, 高アンモニア血症 (3.8 γ /ml) とともに昏睡をきたした例. cytidine 30 mg を静注したが覚醒せず, 血中アンモニアもほとんど変化なし (60分後 3.6 γ /ml, 120分後 3.9 γ /ml). cytidine 1回 30 mg, 朝夕2回ずつ投与したが効果なく翌日死亡.

第5例. K.K. (65歳, ♂): 肝癌末期に血中アンモニアの上昇 (1.5 γ /ml) とともに前昏睡状態となる. cyti-

dine 1回 30 mg, 朝夕2回ずつ投与したが, 意識状態に変化なく, 呼吸困難が増強して翌日夜死亡.

4. 考 察

Pyrimidine nucleotide は生体内で de novo に合成され, 糖質, 脂質代謝の補酵素として, あるいは核酸の構成組材として用いられることは周知のとおりであるが, この pyrimidine 合成系は脳にはないようで, 脳は肝で合成された uridine, cytidine の供給を受けているものと考えられている⁹⁾. 急性 CCl₄ 障害肝では pyrimidine の turn-over が亢進するとともに uridine nucleotides が著しく減少するといわれ, また慢性 CCl₄ 障害肝では UMP, UTP および UDP glucose の著しい減少, UDP-N-acetylglucosamine の著しい増加がみられ, また, pyrimidine の de novo synthesis がかなり障害されるといわれている^{10, 11)}. 肝硬変症では, 尿中 uridine 排出量が減少しているといわれる¹²⁾. このような事実から肝障害の際は脳に対する pyrimidine の供給が不十分になり, そのために脳内代謝が低下することが想像される. 築山, 松本¹³⁾は rat の大脳皮質脳波が皮質の redox-potential の変動に伴って一定の変化を示すことを認め, 皮質における好気性解糖が抑制されると徐波が現われ, 促進されると脳波が速波化すると推論している. 上述のように肝疾患患者で精神神経症状が明らかでない場合でも脳波に徐波の出現頻度が非肝疾患患者に比べて大きいことは, 肝障害に伴って脳組織においても潜在的代謝障害があることを示している. このような際に uridine, cytidine などを投与すると脳の機能が賦活されることは当然考えられるところで, Shafer and Isselbacher¹²⁾は肝性脳症の患者に uridine または cytidine を投与すると脳波が一時的に改善されると述べているが, われわれも高アンモニア血症と異常行動を伴った1例に uridine を用いて, 血中アンモニアの低下と脳波の正常化傾向を認めた(症例1).

アンモニア処理機構に関与する酵素としては mitochondrial enzyme (carbamyl phosphate synthetase, ornithine carbamyl transferase) と soluble enzyme (arginosuccinase, arginine synthetase, arginase) などがあるが, このうち ornithine carbamyl transferase (OCT) は Carbamyl aspartate + Ornithine → Aspartate + Citrulline という反応を触媒する酵素である.

CCl₄ 障害 rat で肝の OCT 活性の下降とともに血清の OCT 活性の上昇を示すことは肝 mitochondria の崩

壊ない肝細胞壊死に伴う一種の酵素逸脱現象と考えられるが、われわれは肝炎急性期あるいは肝硬変症の急性増悪期の患者血清でしばしば OCT 活性の上昇を認めている。このようにして肝細胞内の OCT が血中に逸脱すれば urea cycle の回転が低下することになり、はなはだしい場合にはアンモニアの停滞、さらに肝性脳症を起因する一つの要因になりうると考えられる。また、このような OCT 活性の変動を cytidine が軽減するということは cytidine が肝細胞壊死を抑制するとともに肝内 OCT 活性を維持してアンモニア処理機能の低下を防ぐ効果があることを示している。

肝性昏睡の原因として最近アンモニアと並んでアミンの停滞も重視されている。Asatoor and Kerr¹⁴⁾ によれば肝疾患患者の血中アミン量は $0.53 \pm 0.14 \mu\text{gN/ml}$ で、健康者の平均値 $0.41 \pm 0.09 \mu\text{gN/ml}$ に比べてやや高値であるが有意の差ではないと述べている。また、尿中アミン排泄量は健康者 $8.4 \pm 2.15 \text{ mgN/day}$ 、肝疾患患者 $6.7 \pm 1.7 \text{ mgN/day}$ で、これも有意の差を示さないという。しかし、岸川¹⁵⁾によれば、肝障害 rat では正常 rat に比べて血中総アミンが増加しており、また肝性昏睡患者でも血中総アミンの増加がみられるという。このように肝障害時にアミンの停滞が起こるのは体内 amine oxidase の活性が低下するためであろうと考えられており、岸川¹⁵⁾らは急性肝障害 rat では軽度、慢性肝障害 rat では中等度に臓器内 monoamine oxidase 活性が低下すると述べている。これに対し、われわれが慢性 CCl_4 障害 rat の肝、脳について検索した成績では、上述のように monoamine oxidase にしろ、diamine oxidase にしろ、一時的に活性が低下する時期もあるが、むしろ意外に変動が少なく、monoamine oxidase は肝障害の進行とともにかえって活性の上昇する傾向さえ認められた。しかしこれは肝障害が未ださほど重篤でないためで、われわれが臨床的に遭遇するような重篤な肝障害の際にはやはり臓器内 amine oxidase 活性が低下しているものと想像されるが、このような状況を動物実験で追跡、再現することは容易でない。いずれにせよ、生体内には amine oxidase のような重要な酵素は活性が容易に低下しないような特別の調節機構が存在するのではないかと考えられる。

われわれは慢性肝障害 rat に対し、uridine は肝、脳の amine oxidase 活性を上昇させ、cytidine は肝 amine oxidase 活性の変動を抑制するという成績を得たが、このことから両 nucleoside が肝障害時のアミン代謝を是

正する効果のあることが示唆される。

神経組織における特異性 Ch.E. は acetyl choline の分解を通じて神経機能と直接結びついているが神経機能に磷脂質が重要な役割を果していることは周知のところで、choline ester を substrate とする非特異性 Ch.E. は代謝面から神経機能と関連をもつていると考えられる。肝障害時肝の非特異性 Ch.E. 活性は一旦上昇した後低下する²⁾が、脳の特異性 Ch.E. 活性は著しく低下する。これはやはり脳の潜在性障害を裏書するもので uridine がこの活性低下を軽減することは、脳波に対する賦活効果と相俟つて興味深い。

以上、pyrimidine nucleosides が肝障害時の脳機能を賦活することについて、われわれの実験成績を述べるとともに若干の考察を加えた。臨床的な効果をみると、uridine は肝硬変症に伴う高アンモニア血症と異常脳波に一時的に奏効したほか、肝レンズ核変性症の肝機能を若干改善したが、精神神経症状には影響がなく、また、cytidine は肝レンズ核変性症の銅代謝異常と肝細胞変性を改善したが精神神経症状には影響がみられず、肝癌末期の昏睡 2 例に対してはいずれも無効であつた。このように臨床成績は未だあまり芳しくないが、これはわれわれが実際に遭遇する肝性脳症が必ずしも動物における実験的肝障害と病態を一にしないためであろう。肝障害患者で未だ脳症をきたしていない時期にこれを用いれば脳症の発来を防止する上に有効かも知れない。またすでに脳症を起こしている場合にも他の治療法と併用すれば有意義であると考えられる。今後症例を重ねて検討したい。

5. む す び

Pyrimidine nucleosides が肝障害時の脳機能を賦活する効果について、アンモニアおよびアミン処理機構や Ch.E. 活性、さらに脳波の面から検討し、その作用機序についても考察した。臨床成績は未だ芳しくないが、今後さらに検討する余地があると考えられる。

文 献

- 1) Recknagel, R. O. & Potter, van R.: J. Biol. Chem., 191: 263, 1951.
- 2) 橋本, 村岡, 小田代: ビタミン, 28: 275, 1963.
- 3) 橋本, 恒成, 日高, 迫田: ビタミン, 28: 279, 1963.
- 4) 宮崎英策: 札幌医大紀要, 2: 7, 1951.
- 5) 芦川和高: 癌, 50: 367, 1959.
- 6) Reichard, H. & Reichard, P.: J. Lab. Clin. Med., 52: 709, 1958.
- 7) Conway, E. J.: Microdiffusion analysis

- and volumetric error., Crosby Lockwood and Son Co. Ltd., London, 1st ed., 1950. 8) 松山隆治: 日消会誌, 59: 217, 1962. 9) Geiger, A. and Yamasaki, S.: J. Neurochem., 1: 93, 1956. 10) 吉田, 王子, 和田ほか: 肝臓, 2: 197, 1960. 11) 和田, 河田, 福井ほか: 日消会誌, 59: 844, 1962. 12) Shafer, W. H. & Isselbacher, K. J.: Gastroenterol., 40: 782, 1961. 13) Matsumoto, J., Tsukiyama, K., Hiraoka, K. & Yoshii, N.: Med. J. Osaka Univ., 6: 867, 1956. 14) Asatoor, A. M. & Kerr, D. N. S.: Clin. Chim. Acta, 6: 149, 1961. 15) 岸川, 牧野ほか: 第 49 回 日本消化機病学会, 演題 94, 1963.

*

*

*

*

*

*

*

*

*