

Ethionamide による脂肪肝の発現機序に関する実験的研究

井上 豊治・和 知 勤

国立療養所近畿中央病院貝塚分院

受付 昭和 44 年 2 月 25 日

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE MECHANISM OF FATTY LIVER FORMATION INDUCED BY ETHIONAMIDE*

Bunji INOUE and Tsutomu WACHI

(Received for publication February 25, 1969)

It has been reported that the hepatic functional disorders induced by pyrazinamide (PZA) or ethionamide (TH) are observed frequently, and that TH causes a fatty liver in rat experimentally. To investigate the mechanism of fatty liver formation caused by TH, the following studies were made in regard to the changes of the factor of fatty acid synthesis and of the oxidative decomposition of fatty acid in rat liver.

Male Donryu rats weighing 100 to 150 g were used. They were sacrificed at a fixed time after the administration of TH (60 to 200 mg/kg/day), PZA (60 to 200 mg/kg/day), CCl_4 (0.1 ml/kg) and ethanol (5 g/kg). As regards the factors of fatty acid synthesis, the specific activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH), malic enzyme (ME) and isocitrate dehydrogenase (ICDH) in the soluble fraction of liver were measured spectrophotometrically by increase of NADPH_2 at wave length 340 m μ . For the study of the fatty acid oxidation, on the other hand, the respiration and oxidative phosphorylation of mitochondria isolated from liver were examined by using a polarographic oxymeter with a rotating platinum electrode. The results obtained were as follows.

Fatty accumulation was remarkable in TH, CCl_4 or ethanol administered rat liver.

Among the NADPH_2 generating enzymes examined, the activity of G-6-PDH of TH administered rat liver increased two to three fold in comparison with the control, as well as in CCl_4 administered rat liver. The activities of ME and ICDH in the liver of TH administered rats showed no remarkable change. G-6-PDH activity was enhanced also in the liver of fasted-refed rats or in the liver of rats fed with a low protein-high carbohydrate diet.

There was no great difference in the activities of respiration or oxidative phosphorylation between the mitochondria from TH (60 mg/kg/day for a week) administered rat liver and those from normal rat liver. But in the mitochondria from rats given 400 mg TH/kg at a time, R:C and P:O ratios were decreased temporarily.

From the results mentioned above, it is suggested that the remarkable increase of fatty acid synthesis in liver may cause the fatty liver of TH administered rats.

* From Kaizuka Branch, National Sanatorium Kinki Central Hospital, 1,587 Hashimoto, Kaizuka City, Osaka 597 Japan.

緒 言

抗結核剤による肝機能障害については、Pyrazinamide (PZA) および Ethionamide (TH) による発現率が最も高く、特に TH に関しては、大量の投与で短期間に脂肪肝を起こしうることがラットで観察されている¹⁾。

脂肪肝については飢餓²⁾⁻⁴⁾による脂肪肝を初めアルコール脂肪肝⁵⁾⁶⁾、コリン欠乏脂肪肝⁷⁾、ニコチン酸脂肪肝⁸⁾ およびエチオニン⁹⁾⁻¹¹⁾、四塩化炭素¹²⁾、オロチン酸¹³⁾⁻¹⁵⁾等の薬物による脂肪肝において多くの研究がなされており、その生成機作が明らかにされているものも少なくない。脂肪肝の成因としては、原理的には 1) 肝における脂肪合成の促進、2) 肝における脂肪の酸化分解能の低下、3) 脂肪組織から肝への脂肪酸移行の増加、4) 肝から脂肪の血中への移行の減少、更にはこれらの組合せが考えられている。

我々は TH による脂肪肝の発現機序を明らかにする目的で、上記のうち 1) および 2) の観点から TH 投与ラット肝にみられる変化を調べ、若干の考察を加えたので報告する。

材料および方法

I. 実験動物・飼料および薬剤の投与方法

実験動物には体重 100~150g の Donryu 系雄ラットを用い、特に記載のない限りゼネラル固型飼料 MR-1 (実験動物関西研究所) を自由に与えた。また低蛋白高糖質飼料にはデキストリン 53%、蔗糖 28.34%、ミルクカゼイン 5%、セルローズパウダー 2%、塩混合物 4%、ビタミン混合物 5%、油 (大豆油 80%、肝油 20%) 2% および塩化コリン 0.66% の組成をもつ合成飼料¹⁶⁾を用いた。

薬剤の投与方法は表 2 に示すごとく、四塩化炭素を腹腔内に注射した以外は蒸留水に懸濁あるいは溶解したものを水銃で胃内に注入した。対照には同量の生食水を胃内に注入あるいは腹腔内に注射した。

II. 細胞成分の分画および酵素液の調製法

肝ミトコンドリア、肝ミクロソームの分画および NADPH₂ 産生酵素液の調製は、あらかじめ一夜絶食させたラットを断頭脱血後直ちに開腹し、水冷生食水で還流、血球を十分洗い出した後、取り出した肝臓 1g につ

Table 1. Fractionation of Cell Components of Rat Liver

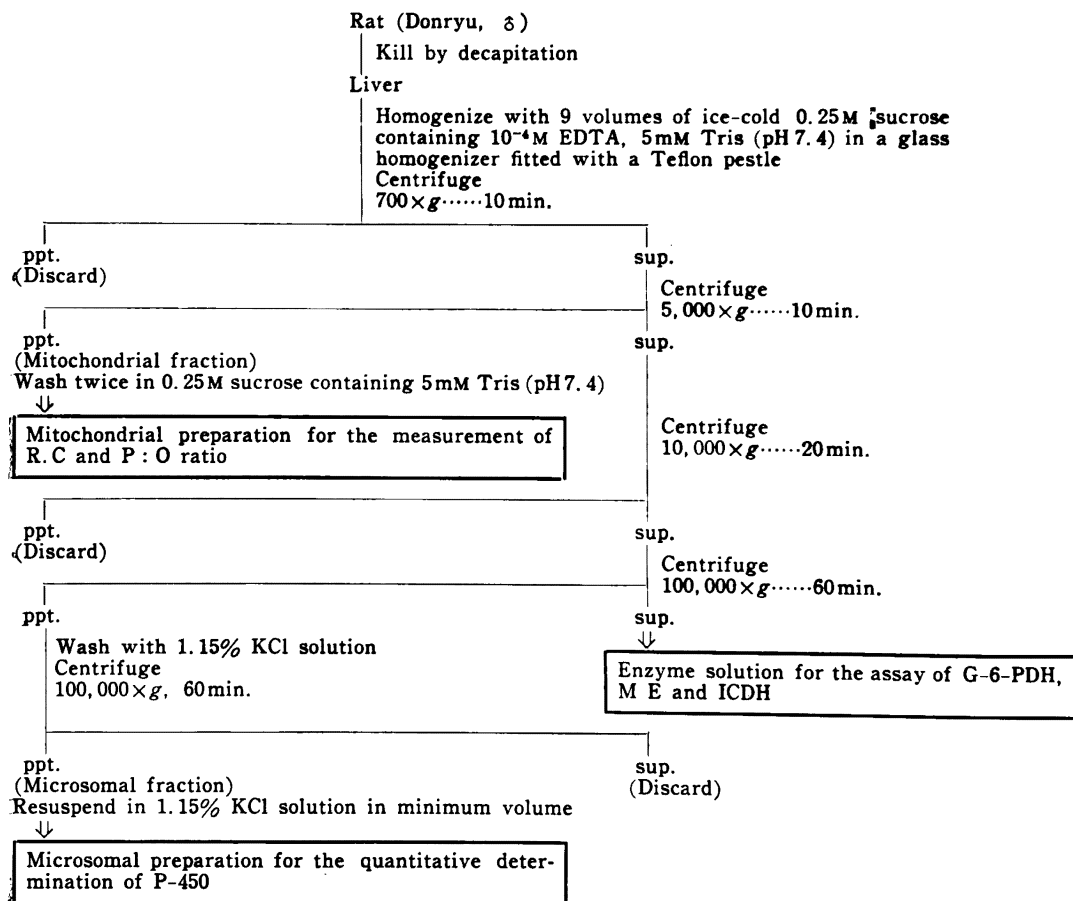


Table 2. Degree of Fatty Accumulation in Rat Liver Induced by Ethionamide and Others

Dosage		Method	Term	Degree of staining with Sudan III
None				±
TH	60 mg/kg/day	Peroral	1 week	+
	200 mg/kg/day	"	4 days	++
PZA	60 mg/kg/day	"	1 week	±
	200 mg/kg/day	"	1 week	+
CCl ₄	0.1 ml/kg	Percutaneous	24 hours*	+++
Ethanol**	5 g/kg	Peroral	20 hours*	++

* The time after administration. ** 50% (v/v) solution of ethanol.

き 9ml の蔗糖液 (蔗糖 0.25M, EDTA 0.1mM, Tris 5mM, pH 7.4) を加えてホモジナイズしたものについて、表 1 に示す方法により行なつた。

Ⅲ. NADPH₂ 産生酵素活性の測定法

(1) ブドウ糖-6-リン酸脱水素酵素 (G-6-PDH)

G-6-PDH の活性の測定は Horecker¹⁷⁾ の方法に準じて行なつた。すなわち 0.25M Tris 緩衝液 (pH 7.4) 1.6 ml, 0.2M MgCl₂ 0.1 ml, 1.16mM NADP 0.1 ml および酵素液 0.1 ml をキューベットにとり、これに 0.1M G-6-P 0.1 ml を添加して反応を開始した。反応開始と同時に Cary 15 型分光光度計および日立分光光度計 DPU 2 型を用いて 25°C で波長 340mμ における吸光度の変化を 1 分間測定し、1mg 蛋白当り 1 分間に生成される NADPH₂ 量で酵素活性を表わした。

(2) リンゴ酸酵素 (ME)

ME の活性の測定は Ochoa¹⁸⁾ の方法に準じて行なつた。上記緩衝液 1.6 ml, 0.02M MnSO₄ 0.1 ml, 1.16mM NADP 0.1 ml および酵素液 0.1 ml をキューベットにとり、0.03M リンゴ酸 (pH 7.4) 0.1 ml を添加、混和と同時に測定を開始した。以下の操作は G-6-PDH の場合と同様に行なつた。

(3) イソクエン酸脱水素酵素 (ICDH)

ICDH の活性の測定は Ochoa¹⁹⁾ の方法に準じて行なつた。上記緩衝液 1.5 ml, 0.02M MnSO₄ 0.1 ml, 1.16mM NADP 0.1 ml および酵素液 (10 倍希釈液) 0.2 ml をキューベットにとり、0.05M イソクエン酸 0.1 ml を添加、混和と同時に測定を開始した。以下の操作は G-6-PDH の場合と同様に行なつた。

Ⅳ. ミクロゾーム P-450 の定量法²⁰⁾

2本のキューベットにそれぞれ 0.2M 磷酸緩衝液 (pH 7.4) 1.0 ml, ミクロゾーム懸濁液 0.2 ml (約 2mg 蛋白相当) をとり、これに蒸留水 0.8 ml を加えて全量を 2.0 ml とした。少量の Na₂S₂O₄ を添加、攪拌して一方を対照とし、他方に CO ガスを通じた後 Cary 15 型分光光度計を用いて差スペクトルを求め、これよりミクロゾーム蛋白 1mg 当りの P-450 を定量した。

Ⅴ. ミトコンドリアの呼吸経過の測定法

ミトコンドリアの呼吸経過の測定には、半密閉型の回転白金電極を用いたオキシメーター²¹⁾を使用した。

KH₂PO₄ 10mM, KCl 80mM, MgCl₂ 5mM および Tris 20mM (pH 7.2) より成る反応液をあらかじめ 25°C で十分大気と平衡させた後 2.4 ml をキューベットにとり、これにミトコンドリア懸濁液 0.1 ml (3.1~3.6 mg 蛋白相当), コハク酸 8mM および ADP 100 μM をそれぞれ一定時間毎に添加して呼吸速度の変化を記録測定し、これよりコハク酸レベルの酸素消費速度、呼吸調節 (R.C. = State 3/State 4)²²⁾ および酸化的磷酸化能 (P:O 比) を求めた。

Ⅵ. 蛋白質定量法

肝上清分画酵素液の蛋白の定量には Biuret 法²³⁾ を用いた。またミトコンドリアおよびミクロゾームの蛋白の定量は、一定量の試料を濃硫酸中で灰化した後蒸留水で希釈し、ネスラーの試薬²⁴⁾ を加えて呈色したものをベックマン分光光度計 B 型を用いて、波長 430mμ における吸収を測定し定量した。

Ⅶ. 薬剤および試薬

本実験では抗結核剤として TH (2-ethyl-thioisonicotinamide, 第一製薬および塩野義製薬) および PZA (Pyrazinamide, 三共) を使用した。また G-6-P (Glucose-6-phosphate, Na 塩), NADP (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, Na 塩) および ADP (Adenosine diphosphate, Na 塩) はシグマ社のものを、コハク酸 (Na 塩), リンゴ酸は和光純薬工業, イソクエン酸 (Na 塩) は片山化学工業のものをを用いた。

結 果

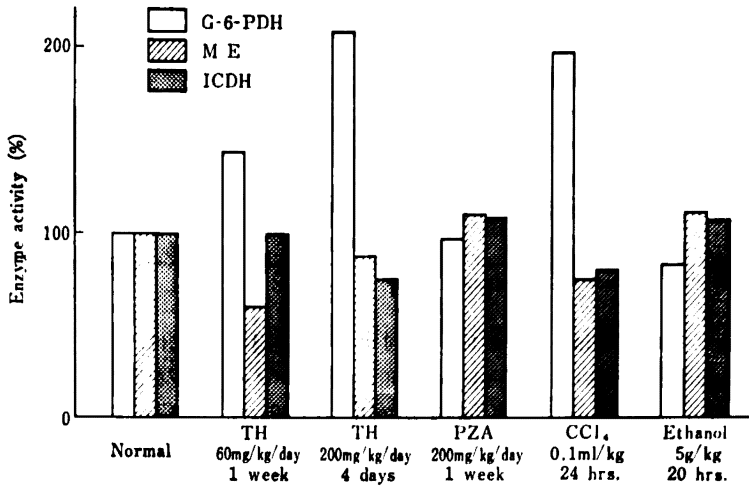
I. TH およびその他により誘起される脂肪肝と肝における NADPH₂ 産生酵素活性

1. 脂肪の蓄積と NADPH₂ 産生酵素活性

TH を連日経口投与したラット肝の組織切片にズダン III 染色を施すと、著明な脂肪の蓄積が認められる。すなわちズダン III 陽性物質が肝小葉静脈中心部に顕著であり、脂肪は原形質中に滴状ないしは顆粒状に存在する。

表 2 は脂肪の蓄積度をズダン III による染色の度合で表

Fig. 1. Effect of Ethionamide and Others on Activities of NADPH₂ Generating Enzymes in Rat Liver



Conditions were same as Table 2.

わしたものである。TH では 60mg/kg, 1 週間の継続投与あるいは 200mg/kg, 4 日間の投与においても著明な脂肪の蓄積が認められるが, PZA では 60mg/kg, 1 週間の投与では対照と差がなく, 200mg/kg, 1 週間の投与でわずかに脂肪の蓄積がみられるにすぎない。四塩化炭素の投与では肝細胞の損傷が著しく, 24 時間後の脂肪の蓄積も極めて著明であった。アルコールの投与については, 5~6g/kg を 50% 溶液で経口的に与えると, 15~20 時間で肝脂肪量は 4 倍に達する⁸⁾ことが知られているが, 本実験においても投与後 20 時間目の肝に明らかな脂肪の蓄積が認められた。

脂肪酸の合成には NADPH₂ が水素供与体として要求されるので, NADPH₂ 産生の増加を測定することにより間接的に脂肪酸合成を推測する目的で, NADPH₂ 産生反応に関与する酵素活性を測定した。図 1 は表 2 に示すものと同一試料について, 肝上清分画の G-6-PDH, ME および ICDH の活性を測定した結果を示したものである。PZA およびアルコールの投与ではいずれの酵素活性についても対照との差はみられないが, TH および四塩化炭素の投与では, G-6-PDH の著しい活性上昇が認められる。図 2 は TH (60mg/kg/day) を継続投与したときの, 3 つの NADPH₂ 産生酵素活性の経時的変化を示したものである。各点はそれぞれ 3~5 例の平均値を表わしている。ICDH は期間中ほとんど変化を示さない。ME も 8 日目に至り活性の低下がみられるほかは変化がみられないが, G-6-PDH は TH の投与開始後 4 日目には著しい活性の上昇を示し, その後も対照に比べ

2~3 倍の活性を保っている。

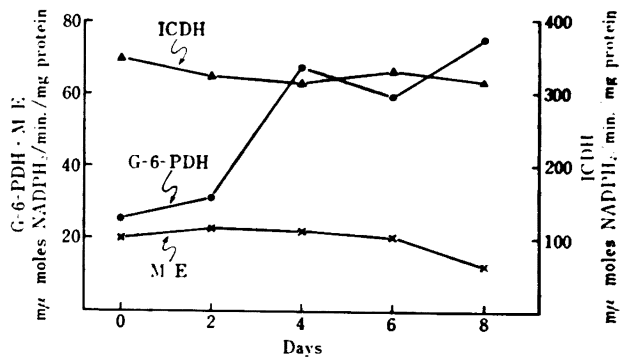
2. 絶食—再給食による NADPH₂ 産生酵素活性の変動

絶食により脂肪などの体構成成分はエネルギー源として使用される結果減少するが, 再給食によりこれを補修するための合成系が誘導的に増大する。その結果脂肪酸の合成が促進され, その際に脂肪酸合成と平行して, NADPH₂ 産生酵素の活性上昇が考えられる。図 3 は 3 日間の絶食後, 再び食餌を与えたときの三酵素の活性の変化を示したものである。絶食期間中 3 者ともわずかな活性の低下を示しているが, 再び食餌を与えると, 24 時間後には G-6-PDH お

よび ME の活性が上昇してくる。その後の活性の変動は特に G-6-PDH において著しく, 食餌再投与後 3 日目には対照の 2.5 倍に達している。

3. 低蛋白—高糖質食による NADPH₂ 産生酵素活性

Fig. 2. Activities of NADPH₂ Generating Enzymes in Rat Liver after TH Administration



Administration of TH (60 mg/kg body weight) was done by stomach tube.

Fig. 3. Activities of NADPH₂ Generating Enzymes in Fasted and Refed Rat Liver

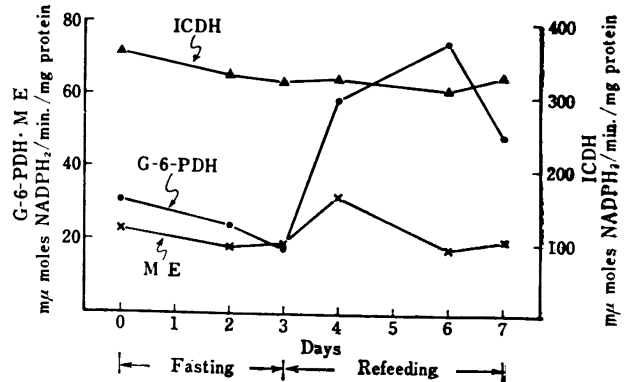
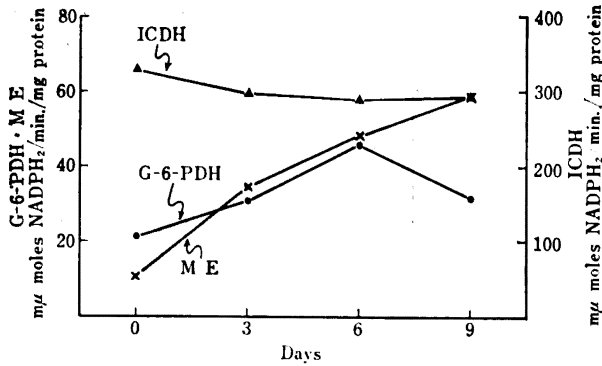
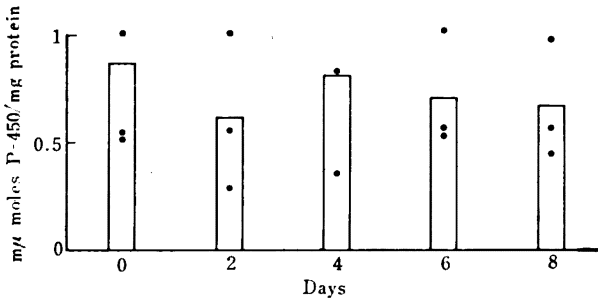


Fig. 4. Activities of NADPH₂ Generating Enzymes in Rat Liver Fed with Low Protein—High Carbohydrate Diet



Contents of the diet were 28.34% sucrose, 53% dextrine, 5% milk casein, 2% cellulose powder, 4% salt mixture, 5% vitamin mixture, 2% oil and 0.66% choline chloride. Stock pellets (General Solid Diet MR-1 from the Jikken Dobutsu Kansai Kenkyusho) were used as control diet.

Fig. 5. Microsomal P-450 in Rat Liver after TH Administration



60 mg TH/kg body weight was given by stomach tube.

の変動

高糖質食の投与により糖から脂質への転換反応が促進される結果、脂肪酸の合成促進と平行して NADPH₂ 産生酵素の活性上昇が考えられる。図4は前記低蛋白—高糖質飼料で飼育したラット肝の三酵素活性の変動を示したものである。3者中 ICDH の活性はほとんど変化しないが、G-6-PDH および ME は著明な活性の上昇を示している。特にこの傾向は ME において著しく、その活性は実験開始後9日目には対照の6倍に達し、G-6-PDH の活性上昇とともに脂肪酸合成の促進に関与していることが推測される。

4. TH 投与ラットにおける肝ミクロゾームの P-450

以上は NADPH₂ 産生についての結果であるが、NADPH₂ の生産が増加する場合には、脂肪酸合成以外の利用系についても検討する必要がある。図5は NADPH₂ の利用系の一つとして肝ミクロゾームの電子伝達系を取り上げ、TH 投与ラットの肝ミクロゾームに含まれる P

-450 を測定した結果を示すものである。P-450 はわずかに減少の傾向を示すのみで、その増量は認められない。

II. TH 投与ラット肝ミトコンドリアの呼吸および酸化的磷酸化能

脂肪肝の成因に関しては、肝における脂肪酸酸化の低下もその要因となりうることが考えられるので、次に TH 投与ラット肝のミトコンドリアについて機能の変化を調べた。表3は TH 400 mg/kg を一時に投与した後6時間、24時間、48時間および96時間目の各時期に肝ミトコンドリアを分離し、それぞれの呼吸速度、呼吸調節および酸化的磷酸化能を調べた結果である。TH の投与による基質（コハク酸）レベルの呼吸速度の低下はみられないが、呼吸調節および磷酸化能は一時的な低下が認められる。図6はその典型的な呼吸経過を示すものである。表4は TH 60 mg/kg を1週間継続投与したときの結果であるが、呼吸速度、呼吸調節および磷酸化能はともに対照との差が認められない。

考 察

脂肪肝の成因については前述の通りであるが、伊藤ら¹⁾の示すごとく、TH 脂肪肝で増量しているのは中性脂肪であり、その中でも特に triglyceride が増加しているところから、本実験では TH 投与肝における脂質合成、殊に脂肪酸の合成とその酸化分解の要因について研究を進めた。

脂肪酸の生合成は、その大部分が細胞内の可溶性分画中で行なわれると考えられている^{25)~29)}が、その際 NADPH₂ が必須的に要求され、その主要な水素供与体となっている。細胞内で NADPH₂ の生成を行なう主な反応は

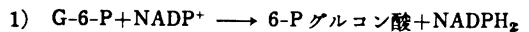
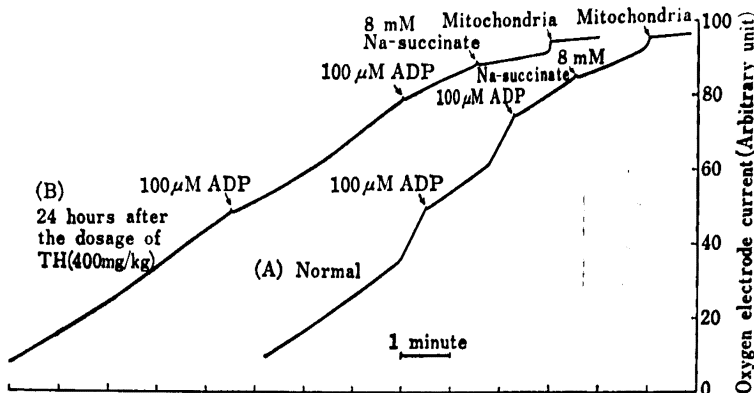


Table 3. Effect of Ethionamide on the Respiration and Oxidative Phosphorylation in Rat Liver Mitochondria

Time after administration of ethionamide*	O ₂ consumption** (mμ atom)	Respiratory control	P:O ratio
Control	8.0	3.4	1.8
6 hours	8.5	3.6	1.8
24	10.8	2.6	1.4
48	8.2	3.4	1.7
96	10.5	3.1	1.7

* 400 mg TH/kg body weight was given orally at a time.
** Succinate level oxygen consumption is expressed by mμ atom/min./mg protein.

Fig. 6. Effect of Ethionamide on the Oxygen Consumption of Rat Liver Mitochondria



The medium contained 10 mM K-phosphate, 80 mM KCl and 5 mM MgCl₂ at pH 7.2. Temperature 25°C. About 3 mg protein of mitochondria was used. Time moves from right to left. Curve (A) expresses the oxygen consumption of mitochondria from normal rat liver and curve (B) expresses the oxygen consumption of mitochondria from TH (400 mg/kg body weight) administered rat liver.

Table 4. Effect of Ethionamide on the Respiration and Oxidative Phosphorylation in Rat Liver Mitochondria

	O ₂ consumption* (mμ atom)	Respiratory control	P:O ratio
Control	7.6	3.2	1.9
TH administration**	8.9	3.2	2.0

* Succinate level oxygen consumption is expressed by mμ atom/min./mg protein.

** 60 mg TH/kg body weight/day was given orally for a week.

- 2) 6-P グルコン酸+NADP⁺
→ リブロース-5-P+NADPH₂
- 3) リンゴ酸+NADP⁺
→ ビルビン酸+CO₂+NADPH₂
- 4) イソクエン酸+NADP⁺
→ オキサロコハク酸+NADPH₂

であるが、1) の G-6-PDH および 2) の 6-ホスホグルコン酸脱水素酵素は常に平行して変動し、かつ HMP 側路の活性は G-6-PDH によつて規制されると考えられるので、G-6-PDH、ME および ICDH の三酵素について検討した。

その結果、表 2 および 図 1 に示すごとく TH および四塩化炭素投与ラット肝では著明な脂肪の蓄積と G-6-PDH の活性上昇が認められ、したがつて NADPH₂ の増量と脂肪酸合成の促進が推測される。アルコールの投与では、脂肪の蓄積が明らかであるにも拘らず G-6-PDH の活性上昇はみられないが、この場合には、アルコールの酸化によつて生成する NADH₂ の増加^{30)~32)}が脂肪酸産生の増加となつている点に相違があるようである。TH を継続投与したときの三酵素の経時的な活性の変動は、

1日当り 60 mg/kg の投与量では図 2 のごとく、G-6-PDH の活性上昇は 4 日目以後に著明となつてくるが、1日当り 200 mg/kg の投与量では脂肪の沈着が早く現われ、G-6-PDH の活性上昇も著しく早められる。

絶食後の再給食および低蛋白-高糖質食では G-6-PDH とともに ME も活性の上昇を示している。ME の役割に関してはむしろビルビン酸→リンゴ酸の方向に働いていると考えられており³³⁾³⁴⁾、脂肪酸合成に果たす役割については詳細な検討が必要であろう。

ICDH はいずれの場合にも著しい変化はみられないが、これが NADPH₂ の要求反応にどの程度

役立っているかは明らかでない。したがつて本実験の結果からも、脂肪酸合成の促進により増加してくる NADPH₂ の要求に関しては、G-6-PDH が主要な働きをしているものと思われる³⁵⁾。それゆえに G-6-PDH の活性の変動は脂肪酸合成の状況を知るための一つの有効な手段と考えられよう。

NADPH₂ は飽和脂肪酸の合成のほか、飽和脂肪酸の不飽和化に際しても要求される^{36)~38)}。TH 投与ラット肝では、総脂肪酸に対する不飽和脂肪酸の割合が増加している³⁹⁾ことから、TH が脂肪酸の不飽和化促進に何らかの作用をもつことも考えられる。

NADPH₂ の利用系に関しては、脂肪酸合成以外にトランスヒドロゲナーゼ、グルタチオン還元酵素等の活性についても検討しなければならないが、本実験では TH の薬物代謝酵素系に対する作用も考慮して、肝ミクロゾームの NADPH₂ 電子伝達系について P-450 の定量を行なつた。その結果 TH 投与ラット肝では P-450 の増量は認められず、したがつて NADPH₂ の生産の増加がミクロゾームの電子伝達系による NADPH₂ の利用促進を誘導することは考えがたい。

TH が *in vivo* で G-6-PDH といかなる相互作用をもつかは今後解明されねばならない問題であろう。しかるに TH またはその代謝物が G-6-PDH に促進的に作用することが脂肪蓄積の一因となつているのか、あるいは全く別の機構によつて TH が脂肪酸合成または脂肪酸の不飽和化に促進的に作用し、その結果 G-6-PDH の活性が上昇するのか、そのいずれであるにしても、TH による脂肪肝の一因が、四塩化炭素¹²⁾やオロチン酸¹⁵⁾による脂肪肝においてもみられるように、肝における脂肪酸合成の促進にあるようである。

以上脂肪酸の合成の要因に対する影響について考察してきたが、次に脂肪酸の酸化に対する影響について考察を加える。

生体内の脂肪酸の合成が細胞質で行なわれるのに対して、脂肪酸の酸化は主にミトコンドリアで行なわれる。その機構を要約すると、1) 脂肪酸の活性化、2) β 酸化回路による二炭素化合物の生成、3) TCA 回路による CO_2 の生成、4) 両回路と共役する電子伝達系による O_2 の利用と H_2O の生成および 5) 電子伝達に共役する酸化的磷酸化反応による ATP の生成、となる。これらのうち 3)~5) の過程は糖の酸化と共通のものであるが、本実験では最終段階の 4) ないしは 5) の過程について調べた。すなわちミトコンドリアにおける呼吸および電子伝達と ATP 生成の密接な関連を示す呼吸調節および磷酸化能を TH 投与ラット肝について調べ、脂肪肝との相関性を検討した。

その結果は表 3 および図 6 に示すごとく、TH の大量の一回投与ではミトコンドリアに一過性の機能低下が起こるが、継続投与では著明な脂肪沈着 (表 2) と G-6-PDH の活性上昇 (図 1 および図 2) がみられるにも拘らず、呼吸および磷酸化能には変化が認められないことから、ミトコンドリアの機能障害、したがって脂肪酸の酸化障害が TH 脂肪肝の直接の原因となつてゐることは考えがたい。しかし脂肪酸の酸化に関しては、初期段階の脂質代謝に特有な過程についての検討も必要であろう。

結 論

1. TH によつて誘起される脂肪肝の発現機序を明らかにする目的で、TH 投与ラット肝における脂肪酸の合成および脂肪酸の酸化分解過程の要因の変化について調べた。

2. 脂肪酸合成およびその不飽和化において要求される NADPH_2 の産生に関与していると思われる G-6-PDH, ME および ICDH の活性を調べた結果、TH 投与ラット肝では、脂肪肝形成と一致して G-6-PDH の著明な活性の上昇が認められた。そのほか脂質の合成促進が考えられる四塩化炭素の投与、絶食後の再給食および低蛋白—高糖質食などにおいても、G-6-PDH の活性上昇がみられた。

3. 脂肪酸の酸化分解については、TH 投与ラット肝より分離したミトコンドリアの呼吸経過を酸素電極法により測定した。その結果、TH の大量一回投与で一過性に呼吸調節および磷酸化能の低下がみられたが、基質レベルの酸素消費速度には変化がみられなかつた。また TH の継続投与では、著明な脂肪の蓄積が認められる場合にも、酸素消費速度、呼吸調節および磷酸化能にはいずれも変化が認められなかつた。

4. これらの結果から、TH による脂肪肝形成の一因が、肝における脂肪酸合成の異常な亢進にあることが推測される。

稿を終るに臨み、ご校閲を賜りました大阪大学癌研坂本幸哉教授ならびに岡山大学癌研内海耕助教授に深甚なる謝意を捧げますとともに、実験にご協力いただいた岸田敏子氏に深謝いたします。

本報告の一部は昭和 43 年 4 月第 43 回日本結核病学会および昭和 43 年 10 月第 23 回国立病院療養所総合医学会において発表した。

なお本報告は、厚生省国立結核療養所中央個別研究費の配分を受けて行なつた研究の一部である。

文 献

- 1) 伊藤文雄・早野和夫：日本胸部臨床，23：439，昭和 39。
- 2) MacLachlan, P. L., Hadge, C. H., Bloor, W. R., Welch, E. A., Traux, F. L. and Taylor, J. D.: J. Biol. Chem., 143: 473, 1942.
- 3) Deuel, H. J., Jr., Gulick, M., Grumewald, C. F. and Cuther, C. H.: J. Biol. Chem., 104: 519, 1934.
- 4) Barret, H. M., Best, C. H. and Ridout, J. H.: J. Physiol., 93: 367, 1948.
- 5) Luzio, N. R. D.: Am. J. Physiol., 194: 453, 1958.
- 6) Brodie, B. B., Butler, W. M., Jr., Horning, M. G., Maicked, R. P. and Maling, U. M.: Am. J. Clin. Nutrition, 9: 432, 1961.
- 7) Forbes, J. C., Petterson, O. M. and Rudolph, R. A.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 118: 59, 1965.
- 8) Rikans, L. L., Arata, D. and Cederquist, D. C.: J. Nutrition, 82: 83, 1964.
- 9) Harris, P. M. and Robinson, D. S.: Biochem. J., 80: 352, 1961.
- 10) Villa-Trevino, S., Shull, K. H. and Farber, E.: J. Biol. Chem., 238: 1757, 1963.
- 11) Shull, K. H. and Villa-Trevino, S.: Biochem. Biophys. Research Commun., 16: 101, 1964.
- 12) Maling, H. M., Frank, A. and Horning, M. G.: Biochim. et Biophys. Acta, 64: 540, 1962.
- 13) Windmueller, H. G.: J. Biol. Chem., 239: 530, 1964.
- 14) Von Euler, L. H., Rubin, R. J. and Handshumacher, R. E.: J. Biol. Chem., 238: 2464, 1963.
- 15) Creasey, W. A., Hankin, L. and Handshumacher, R. E.: J. Biol. Chem., 236: 2064, 1961.
- 16) 中田陽造・坂本幸哉：総合医学，20: 345，昭和 38。
- 17) Horecker, B. L. and Kornberg, A.: Method in Enzymology III: 879, 1957.
- 18) Ochoa, S.: Method in Enzymology I: 739, 1955.
- 19) Ochoa, S.: Method in Enzymology I: 699,

- 1955.
- 20) Omura, T. and Sato, R. : J. Biol. Chem., 239 : 2370, 1964.
- 21) Hagihara, B. : Biochim. Biophys. Acta, 46 : 134, 1961.
- 22) Chance, B. and Williams, G. R. : Adv. Enzymology, 17 : 65, 1956.
- 23) Gornall, A. G., Bardawill, C. S. and David, M. M. : J. Biol. Chem., 177 : 751, 1949.
- 24) Koch, F. C. and McMeekin, T. L. : J. Am. Chem. Soc., 46 : 2066, 1924.
- 25) Hsu, R. Y., Wasson, G. and Porter, J. W. : J. Biol. Chem., 240 : 3736, 1965.
- 26) Ganguly, J. : Biochim. Biophys. Acta, 40 : 110, 1960.
- 27) Martin, D. B., Horning, M. G. and Vagelos, P. R. : J. Biol. Chem., 236 : 663, 1961.
- 28) Brady, R. O. : J. Biol. Chem., 235 : 3099, 1960.
- 29) Fang, M. and Lowenstein, J. M. : Biochem. J., 105 : 803, 1967.
- 30) Smith, M. E. and Newman, H. W. : J. Biol. Chem., 234 : 1544, 1959.
- 31) Forsander, O., Raiha, N. and Suomalainen, H. : Hoppe Seyler Z. Physiol. Chem., 312 : 243, 1958.
- 32) Rebouças, G. and Isselbacher, K. J. : J. Clin. Invest., 40 : 1355, 1961.
- 33) Lardy, H. A., Foster, D. O., Shrago, E. and Ray, P. D. : Adv. in Enz. Regulation, II : 39, Pergamon Press, New York, 1964.
- 34) Wada, F., Maruyama, E., Shibayama, K. and Sakamoto, Y. : J. Biochem., 63 : 805, 1968.
- 35) Gibson, D. M., Tichner, E. B. and Wakil, S. J. : Biochim. Biophys. Acta, 30 : 376, 1958.
- 36) Imai, Y. : J. Biochem., 49 : 642, 1961.
- 37) Marsh, J. B. and James, A. T. : Biochim. Biophys. Acta, 60 : 320, 1962.
- 38) Stoffel, W. : Biochem. and Biophys. Research Communs., 6 : 270, 1961.
- 39) 井上豊治・和知勤 (未発表).