

Title	Free Radical Scavenger, Edaravone, Attenuates Steatosis and Cell Death via Reducing Inflammatory Cytokine Production in Rat Acute Liver Injury.
Sub Title	新規ラジカル消去剤エダラボンは炎症性サイトカインの抑制を介してラット急性肝障害における脂肪化、細胞死を抑制する
Author	中本, 伸宏(Nakamoto, Nobuhiro)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.2 (2004. 6) ,p.17-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0017">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0017</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# A Free Radical Scavenger, Edaravone, Attenuates Steatosis and Cell Death via Reducing Inflammatory Cytokine Production in Rat Acute Liver Injury.

(新規ラジカル消去剤エダラボンは炎症性サイトカインの抑制を介して  
ラット急性肝障害における脂肪化、細胞死を抑制する)

中 本 伸 宏

## 内容の要旨

【緒言】種々の肝障害において、フリーラジカル、炎症性サイトカインが重要な役割を果たしている。エダラボンは新規に開発されたラジカル消去剤であり、脳血管障害においてその有効性が知られている。しかし本薬の肝障害における効果および作用機序については解明されていない。そこで申請者はその点を明らかにする目的で、ラット四塩化炭素 (carbon tetrachloride; 以下CCl<sub>4</sub>) 急性肝障害モデルを用いて検討を行った。

【材料・方法】実験にはWistar系雄性ratを用いた。オリーブオイルを腹腔内投与するコントロール群、CCl<sub>4</sub>を腹腔内投与する群、CCl<sub>4</sub>投与直後、3時間後にエダラボンを静脈内投与する群の計3群を作成した。血清生化学的検討としてtotal bilirubin (以下TB)、alanine aminotransferase (以下ALT)、lactate dehydrogenase (以下LDH) 値を測定した。組織学的検討としてHE染色、oil red O染色を行い、アポトーシスの検出としてTUNEL染色を施行した。脂質過酸化の評価として肝組織中のmalondialdehyde (以下MDA) の定量、4-hydroxynonenal (以下4-HNE) 免疫組織染色を、DNA酸化傷害の評価として8-hydroxy-2-deoxyguanosine (以下8-OHdG) 免疫組織染色を行った。また炎症性サイトカインの評価として、ELISA法による血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10量、RT-PCR法による肝組織内TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-6、IL-10mRNAの発現を検討した。

【結果】CCl<sub>4</sub>投与後に認められた血清TB、ALT、LDHの上昇はエダラボンの投与により有意に抑制された。CCl<sub>4</sub>単独群では24時間後に中心静脈周囲に脂肪滴の沈着、中程度の壊死性変化を認めたが、エダラボン投与群では障害の程度は軽度であった。また単独群で24、48時間後に認められたTUNEL陽性細胞もエダラボン投与により有意に減少した。脂質過酸化の指標は肝組織MDA定量、4-HNE免疫染色陽性細胞数いずれも、単独群に比べエダラボン投与群で軽度であった。一方8-OHdGは、単独群で48時間後に核染色される肝細胞が認められ、エダラボン投与群ではその数は有意に減少した。血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-10はCCl<sub>4</sub>投与後それぞれ6、12、24時間後をピークに上昇しエダラボンの投与により有意に低下した。またCCl<sub>4</sub>投与により24時間後の肝組織中TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-6、IL-10mRNAの発現が亢進し、エダラボン併用群では有意に抑制された。

【結論】エダラボンはラジカル消去効果に加えて、その過程において炎症性サイトカインの産生やDNA酸化傷害を抑制することにより急性肝障害保護効果を有することが明らかとなった。

## 論文審査の要旨

種々の肝障害の進展にフリーラジカルや酸化ストレスが関与することが知られており、ラジカルや過酸化脂質の産生抑制が肝疾患の治療において重要である。現在までに様々な抗酸化物質による肝障害抑制効果が報告されているが、臨床的に有用な薬物は少ない。近年脳梗塞の治療にフリーラジカル消去剤であるエダラボンの有効性が報告され、臨床の場において広く使われている。本研究では、エダラボンを将来的に臨床応用することを目的とし、ラット四塩化炭素 (carbon tetrachloride; 以下CCl<sub>4</sub>) 急性肝障害モデルを用いその肝障害に対する効果、機序を脂質過酸化、DNA酸化傷害、炎症性サイトカインならびに組織学的側面から検討した。その結果、CCl<sub>4</sub>投与後に認められた血清学的、組織学的変化はエダラボンの投与により著明に改善した。その機序としてラジカル消去効果に加えて、TNF- $\alpha$ 、IL-6などの炎症性サイトカインの産生やDNA酸化傷害の抑制が明らかとなり、本薬物の今後の薬物性肝障害、肝硬変、肝癌などへの臨床応用が期待される。

審査では、まず本実験で用いたCCl<sub>4</sub>の投与量について質問があり、急性肝障害をもたらす一般的な量であり、肝硬変モデルで用いる量よりは高用量であるとの説明がなされた。次に炎症性細胞浸潤を伴う壊死性変化と脂肪変性を認める細胞のdistributionの違いの意味について質問がなされ、部位により障害程度に違いがあり、脂肪変性を認める細胞とnecrosis、apoptosisを認める細胞は違う可能性が高い旨説明がなされた。またCCl<sub>4</sub>急性肝障害におけるラジカル、炎症性サイトカイン、DNA酸化傷害などの各因子の相互関連について質問がなされた。これに対し、肝細胞内に存在するCYP2E1により発生したラジカルにより各細胞器官の脂質過酸化、DNA酸化傷害などによる一次的な細胞障害が生じ、さらにこれらの炎症により炎症性細胞が誘導され、炎症性サイトカインなどによる二次的な障害がもたらされる旨説明がなされた。次にビタミンE、superoxide dismutase (SOD) などの抗酸化物質による効果と本薬物の比較、今後の臨床応用について質問がなされ、静脈投与による迅速な組織移行性、強力な脂質過酸化抑制効果を有しており、今後薬物性、アルコール性などの急性肝障害、劇症肝炎に対し臨床応用が期待されるとの回答がなされた。最後に本研究の問題点として、CCl<sub>4</sub>急性肝障害における炎症細胞の活性化ならびに炎症性サイトカインの発現機序、エダラボンのP450などの薬物代謝酵素に対する影響についてのさらなる検討が必要である旨助言がなされた。

以上のように本研究はいくつかの検討課題は残しているものの、ラジカル抑制を介した肝障害に対する有効な治療法を確立するための重要な研究であり、臨床的にも価値ある研究と評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 石井 裕正

医化学 末松 誠 病理学 岡田 保典

外科学 北島 政樹

学術確認担当者:

審査委員長: 末松 誠

試問日: 平成16年1月20日