

第36回麻布環境科学研究会 一般学術講演3

アセトアミノフェンによる急性肝毒性： ミトコンドリア傷害の関与

○吉川 葵, 宮坂 円香, 小泉 芹奈, 納谷 裕子, 荻原 喜久美, 島田 章則

麻布大学 生命・環境科学部 病理学研究室

【背景および目的】

市販解熱鎮痛剤の主成分であるアセトアミノフェンにより肝細胞傷害が起こることが知られている。アセトアミノフェンは細胞内のシトクロム P450 により酸化され、中間代謝産物 N-アセチルパラベンゾキノニンイミン (NAPQI) となる。NAPQI は、グルタチオンに抱合され、無毒化される。しかし、大量に服用した場合や、グルタチオンが不足している場合に、NAPQI が細胞内のミトコンドリアタンパク質・DNA と結合することにより、ミトコンドリア傷害、二次的活性酸素種産生および細胞傷害 (壊死) をもたらす (図1) (1, 2)。

本研究では、アセトアミノフェン肝細胞傷害におけるミトコンドリアの役割に的を絞って、1. 傷害像の形態学的特徴、2. 傷害ミトコンドリア所見、3. 傷害ミトコンドリア除去を目的としたオートファジー (マイトファジー) ならびに活性酸素種の関与、4. 血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ ミトコンドリア分画 (m-AST: 壊死を伴う肝細胞傷害がミトコンドリアにまで及ぶ際に上昇) と肝細胞傷害との関連を明らかにすることを目的とした。

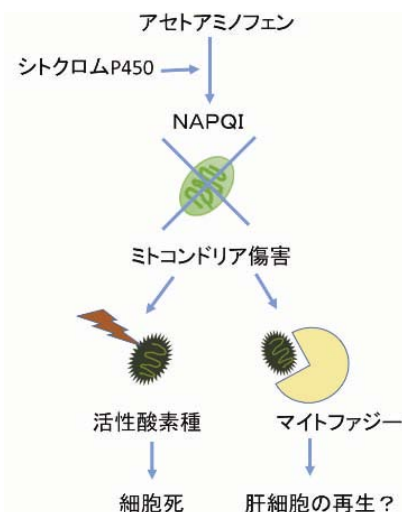


図1 アセトアミノフェン毒性

【材料および方法】

- ・ ICR マウス 5 週齢オス (日本 CLEA 株式会社) 各 5 匹
- ・ アセトアミノフェン (4'-Hydroxyacetanilide・東京化成工業株式会社)
450 mg/kg 生理食塩中に溶解し腹腔内投与, 6, 12, 24 時間後に剖検。

上記の材料を用いて HE 染色, 免疫染色および電子顕微鏡による解析を行った。免疫染色には抗 LC3 抗体 (オートファジーマーカー: Bioss, Inc), 抗 8-ニトログアノシン抗体 (活性酸素種傷害ミトコンドリア DNA マーカー: COSMO BIO CO., LTD), 抗 COX IV 抗体 (ミトコンドリアタンパク質マーカー: Gene Tex), 抗 IL-1 β 抗体 (炎症性サイトカイン: Bioss, Inc), 抗 Cryopyrin 抗体 (IL-1 β の前駆物質: Bioss, Inc) を用いた。血清検査 (AST, ALT) は麻布大学動物病院で測定 (MDH-UV 法)。m-AST については m-GOT 試薬・A コクサイキット (Sysmex) を用いた。

【結果および考察】

1. HE 染色の結果, 投与 6, 12 時間後では中心静脈周囲に壊死巣, 再生肝細胞層, 空胞を伴う肝細胞層の三層構造が認められた (図2)。投与 24 時間後では壊死巣の範囲が狭くなり, 肝細胞再生の亢進が示唆された。

2. 免疫染色の結果、投与6時間後で空胞に一致して凝集している抗LC3b抗体陽性像が見られたことから、投与6時間後で最もオートファジーが亢進していることが示唆された。また、すべてのアセトアミノフェン投与群において核と細胞質に抗8-ニトログアノシン抗体陽性像が見られ、12時間後で小葉中心性に最も強い陽性像が見られた。抗COX IV抗体では、投与6時間後で最も強い顆粒状ないし凝集した陽性像が見られた。IL-1 β では投与6時間後で最も広い範囲で肝細胞に陽性像が見られた。また抗Cryopyrin抗体でも同様の結果が得られたことから、初期傷害時にサイトカインの放出が活発に起こっていることが示唆された。

3. 電子顕微鏡による解析では投与6時間後でミトコンドリアの増生が見られた。また空胞がミトコンドリア様小器官を取り込んでいる像（マイトファジーを示唆）が確認された。
4. 血清検査（AST, ALT）では、投与6時間後をピークに高値を示し、投与24時間後においては基準値に近い値を示した。これより、再生による修復が進行していることが示唆された。
- また、アセトアミノフェン投与後、傷害の進行に伴うASTにおけるm-ASTの割合の増加傾向が認められた。この結果はCOXIV陽性所見と一致していた。

以上の結果から、アセトアミノフェン肝傷害所見にミトコンドリア傷害および防御系としてのマイトファジーが関与することが示唆された（図3）。

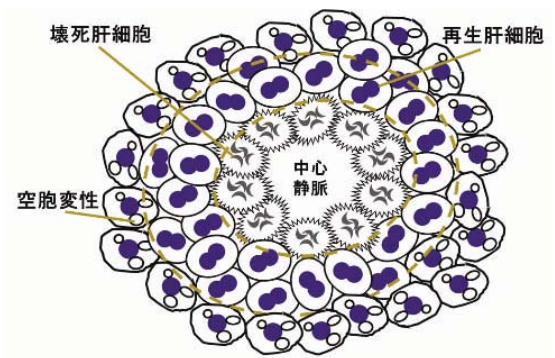


図2 アセトアミノフェン投与後の肝細胞障害像の模式図

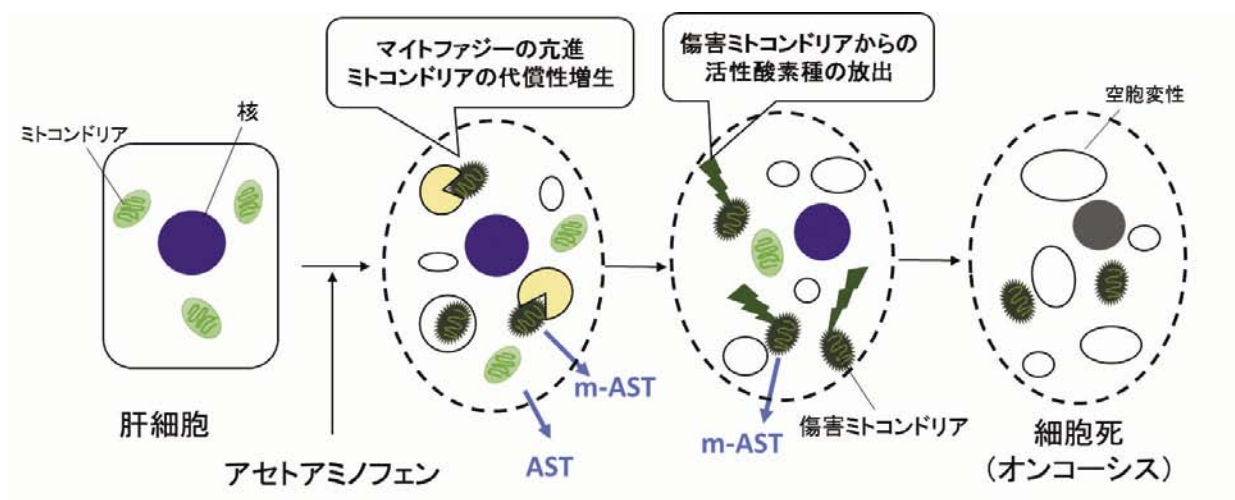


図3 アセトアミノフェンによる細胞傷害機序についての模式図

【参考文献】

- 1) Hong-Min Ni *et al.* Activation of autophagy protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Hepatology*, 2012, 55: 222-231.
- 2) Hong-Min Ni *et al.* Zonated induction of autophagy and mitochondrial spheroids limits acetaminophen-induced necrosis in the liver. *Redox Biology*, 2013, 1: 427-432.