

第37回麻布環境科学研究会 一般学術講演9

アセトアミノフェンによる肝細胞傷害発生機序： 傷害ミトコンドリアとオートファジー

○小泉 芹奈, 大室 友暉, 荻原 喜久美, 納谷 裕子, 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】

解熱鎮痛剤の主成分であるアセトアミノフェン (APAP) は副作用として肝細胞傷害を起こす。中間代謝産物N-アセチルパラベンゾキノニンイミン (NAPQI) によるミトコンドリア傷害およびそれに引き続く活性酸素種の産生による細胞死傷害機序の関与が示唆されている (図1)^{1),2)}。また、肝細胞が壊死を起こす強い傷害においてミトコンドリア-AST (m-AST) が血中に逸脱する。本研究では、傷害ミトコンドリア除去のための細胞内防御機構であるオートファジー (マイトファジー)^{1),2)}に注目し、病理学的解析を行った。

【材料および方法】

SDラット6週齢オスにアセトアミノフェンを1000 mg/kg腹腔内投与, 3, 6, 12, 24時間後に剖検した (APAP群)。次に、アセトアミノフェン1000 mg/kg およびラパマイシン (Rap, オートファジー誘導剤) 2 mg/kgを同時投与し, 6, 24時間後に剖検した (APAP+Rap群)。血清検査は総AST値およびm-AST値を測定した。肝臓のHE染色, LC3 (オートファジーマーカー), COX IV (ミトコンドリアマーカー), 8-ニトログアノシン (活性酸素種によるDNA傷害マーカー), SOD (活性酸素種除去マーカー), IL-1 β (炎症性サイトカイン), インフラマソーム (IL-1 β の前駆体), TNF- α (炎症性サイトカイン) について免疫染色, 電子顕微鏡解析を実施した。

【結果】

1. 血清検査

APAP群において、血清総AST値およびm-AST値

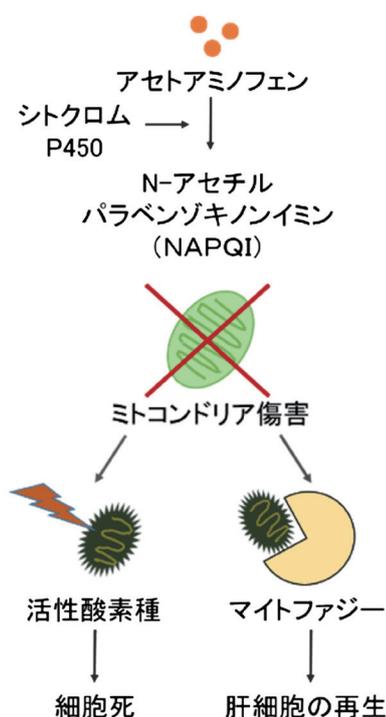


図1. アセトアミノフェンによる肝傷害発生機序

が経時的に増加し、投与24時間後で最高値を示した。APAP+Rap群では、両者ともに低値を示した。

2. HE染色

APAP群において、投与3～6時間後に小葉中心性の空胞変性, 12～24時間後に凝固壊死が認められた。APAP+Rap群投与24時間後において、凝固壊死は認められなかった。

3. 免疫染色

APAP群において、投与時間の経過に伴いCOX IV

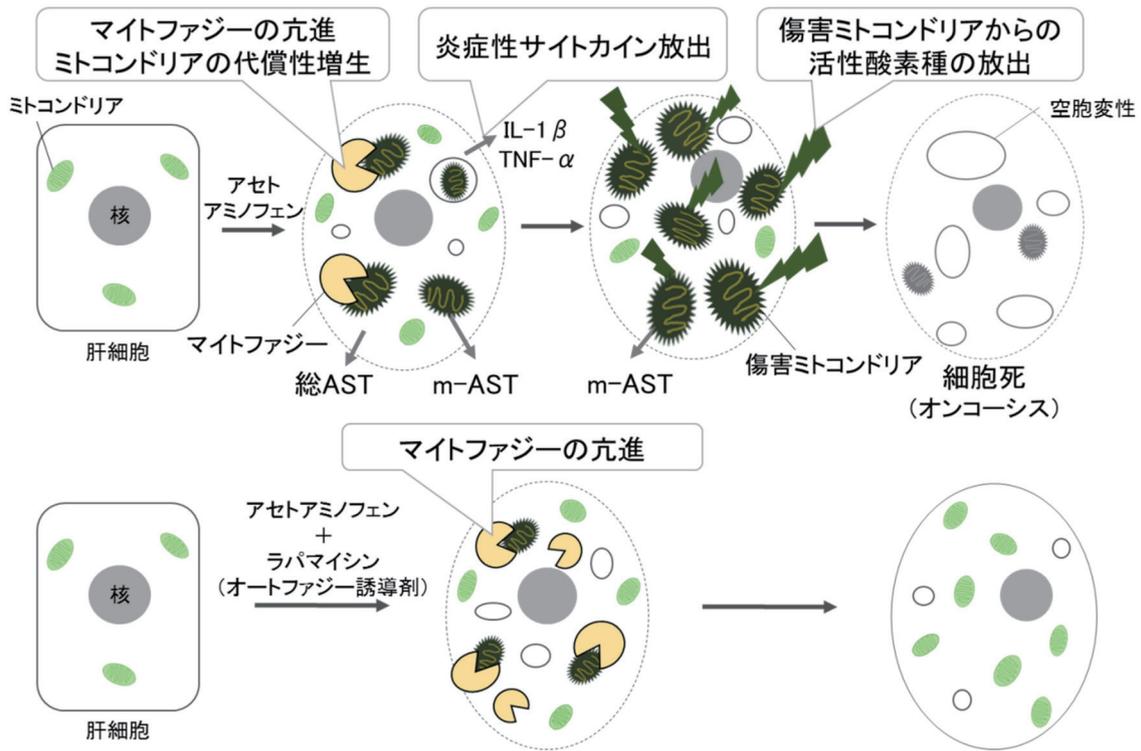


図 2. アセトアミノフェンによる肝細胞傷害像およびオートファジー誘導の効果

の陽性像が増加，また投与 3～6 時間後にかけて LC3 の陽性像が増加した。小葉中心性に肝細胞質内に 8-ニトログアノシンおよび SOD の陽性像が認められ，投与 6～12 時間後に強陽性像が多数確認された。投与 3～6 時間後にかけて TNF- α および IL-1 β が強陽性であった。インフラマソームは経時的に陽性像が减弱した。APAP 群と比較して，APAP+Rap 群において LC3 では投与 24 時間後に強陽性，8-ニトログアノシンでは陽性顆粒の減少が認められた。

4. 電子顕微鏡解析

コントロール群においてクリステが明瞭なミトコンドリアが認められたが，APAP 群においてクリステが破壊された重度傷害ミトコンドリアが認められた。また，隔離膜がミトコンドリアを取り込んでいる像（マイトファジーを示唆）も認められた。APAP+Rap 群において，軽度傷害ミトコンドリアおよび隔離膜（オートファジーの初期像）が認められた。

【考察】

アセトアミノフェン肝傷害に傷害ミトコンドリアおよび二次的活性酸素種が関与することが示唆された。ラパマイシン投与により，オートファジーを誘導することによって傷害ミトコンドリア除去による肝細胞傷害の軽減が示唆されたため，治療薬としてオートファジー誘導剤の臨床的応用が期待される（図 2）。また，肝細胞傷害の進行に伴い増加が認められた血清 m-AST 値が，ミトコンドリア傷害を伴う重度肝細胞傷害の指標となることが示唆された。

【参考文献】

- 1) Hong-Min, Ni, Jessica, A.W., Hartmut, J. and Wen-Xing, D. 2013. Zonated induction of autophagy and mitochondrial spheroids limits acetaminophen-induced necrosis in the liver. *Redox Biol.* 1: 427–432.
- 2) Hong-Min, Ni, Abigail, B., Nikki, B., Hartmut, J. and Wen-Xing, D. 2012. Activation of Autophagy Protects against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity. *Hepatol.* 55: 222–232.