

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

薬理と治療 (2002.11) 30巻Suppl.2:S369～372.

【肝病態生理研究のあゆみ】

Concanavalin A(Con A)誘発マウス肝障害モデルにおけるNSAIDsの効果

岡本 聡, 玉木陽穂, 伊藤 拓, 横浜吏郎, 岡田充巧, 麻生
和信, 中村公英, 牧野 勲, 米田政志

15. Concanavalin A (Con A) 誘発マウス 肝障害モデルにおける NSAIDs の効果

旭川医科大学 第二内科

岡 本 聡 玉 木 陽 穂 伊 藤 拓
横 浜 吏 郎 岡 田 充 巧 麻 生 和 信
中 村 公 英 牧 野 勲

獨協医科大学 消化器内科

米 田 政 志

Effect of NSAIDs on Concanavalin A-induced Liver Injury in Mice

Satoshi Okamoto¹⁾, Yohsui Tamaki¹⁾, Taku Ito¹⁾,
Shiro Yokohama¹⁾, Mitsuyoshi Okada¹⁾, Kazunobu Aso¹⁾,
Kimihide Nakamura¹⁾, Isao Makino¹⁾ and Masashi Yoneda²⁾

¹⁾Second Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical College

²⁾Department of Gastroenterology, Dokkyo University School of Medicine

KEY WORDS

Concanavalin A, Liver injury, NSAIDs, Cytokine, Chemokine

はじめに

nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) は種々の炎症性疾患や感染症に対する解熱鎮痛剤として汎用されている。一方、本剤の副作用として消化管粘膜障害や肝障害などが報告されているが、肝障害発症機序については不明な点が多い^{1,2)}。最近、Tiegs らにより、マウスに concanavalin A (Con A) を静脈内投与することにより、T 細胞を活性化し、サイトカイン産生亢進を介した、免疫学的肝障害モ

デルが報告されている^{3~5)}。本モデルにおいてわれわれは、TNF- α 、IFN- γ などの炎症性サイトカインのほか、TNF- α によって誘導されるマウス CXC ケモカインである macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2) と多核白血球が肝細胞障害発症に関与していること、抗凝固剤である antithrombin III (AT-III) が prostacyclin 産生を介して肝障害発症を抑制することを報告した^{6,7)}。

今回、Con A 肝障害モデルに対する NSAIDs の効果とサイトカイン、ケモカイン産生能に対する影響

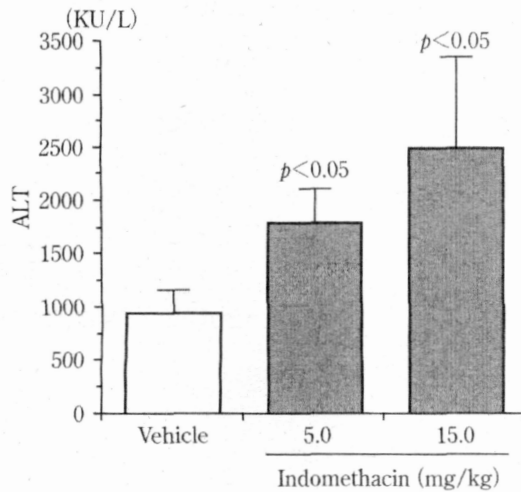


図1 Con A 肝障害に対する indomethacin 前投与の影響

を検討した。

I 方 法

既報のごとく7週齢の雌性 Balb/c マウスに Con A (Type IV, Sigma 社) 15 mg/kgBW を 0.3 mL の生理食塩水に溶解し、マウス尾静脈から1回静注することにより肝障害モデルを作製した⁶⁾。NSAIDs として indomethacin (0, 5, 15 mg/kgBW, Wako 社) を 1%NaHCO₃ 水溶液 0.5 mL に溶解し、Con A 投与 30 分前に腹腔内投与した。Con A 投与 8 時間後の血中 ALT 値を酵素法 (Wako 社キット) で、血中 TNF- α , IFN- γ , IL-10, MIP-2 濃度を ELISA 法 (TNF- α , IFN- γ , IL-10; Genzyme 社, MIP-2; IBL 社キット) を用いて測定した。また、15 mg/kg の indomethacin 投与後、マウス recombinant TNF- α (IBL 社) 2 μ g を 0.2 mL の生理食塩水に溶解、静注し、2 時間後の血中 MIP-2 産生能に対する NSAIDs の影響を検討した。統計学的検討は、血清 ALT 値ならびに血中 TNF- α , IFN- γ , IL-10, MIP-2 濃度の結果を mean \pm SE で示し、有意差検定は分散分析 (ANOVA) にて行った。

II 結 果

1 Con A 肝障害に対する indomethacin の効果

indomethacin 単独投与では肝障害は認められな

かったが、indomethacin 前投与により、Con A 投与 8 時間後の血中 ALT 値は対照群に比べ有意に上昇し、また、肝障害増悪作用は indomethacin 投与量依存性であった (図 1)。

2 Con A 投与後の血中 cytokine, chemokine 産生に対する indomethacin の影響

indomethacin 前投与により Con A 投与 8 時間後の血中 TNF- α 値は 15 mg/kgBW 投与群において有意に上昇し、血中 IFN- γ 値は 5, 15 mg/kgBW 両投与群において有意に上昇した (図 2a, 2b)。また、血中 MIP-2 値も 5, 15 mg/kgBW 投与両群において用量依存性に有意に上昇した (図 2c)。一方、血中 IL-10 値は 15 mg/kgBW 投与群においてのみ有意に上昇した (図 2d)。

3 TNF- α による MIP-2 産生と indomethacin 前投与の影響

われわれはすでに TNF- α により血中に MIP-2 が誘導されることを報告しているが⁶⁾、indomethacin 単独投与では血中に MIP-2 は誘導されなかった。しかし、indomethacin 5 mg/kgBW を前投与し、2 μ g のマウス TNF- α を投与すると TNF- α 単独投与に比べ血中 MIP-2 は有意に上昇した (図 3)。

III 考 察

Con A 誘発マウス肝障害モデルの発症機序としては、Con A により T 細胞が活性化され、さらに活性化 T 細胞から過剰産生されるサイトカインによって肝に広範な壊死炎症が生じるとされている^{3~5)}。その発症にかかわるサイトカインとしては、中和抗体やノックアウトマウスを用いた検討から、TNF- α , INF- γ などの炎症性サイトカインが重要な役割を担っており、免疫学的肝細胞障害の発症機序や治療法の研究に有用なモデルと考えられている。

一方、最近われわれは、Con A 肝障害モデルにおいて TNF- α によりマウス CXC ケモカインの macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2) が誘導され、多核白血球を肝組織内へ遊走活性化し肝障害発症に関与することを見出し⁶⁾、さらに、抗凝固剤である antithrombin III が MIP-2 産生抑制と prostacyclin 産生促進を介して肝障害発症を阻止することを報告した⁷⁾。今回、本モデルを用いて、Con A 肝障害とサ

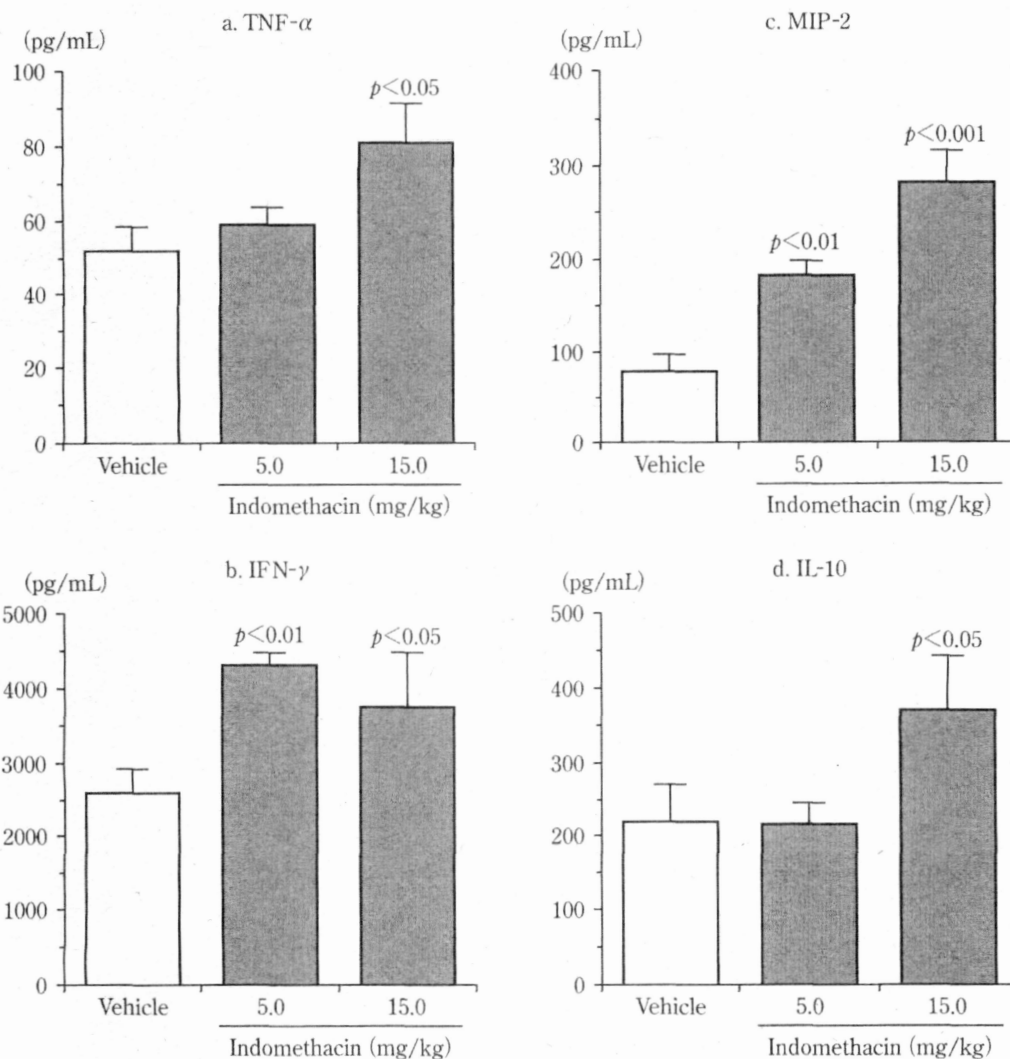


図 2 各種 cytokine, chemokine 産生に対する indomethacin の影響

イトカイン, ケモカイン産生能に対する NSAIDs の影響について検討した。今回の検討では, indomethacin の前投与は, Con A 肝細胞障害を用量依存性に増悪させた (図 1)。また, その作用機序としては, TNF- α , IFN- γ , MIP-2 などの炎症性サイトカイン, ケモカイン産生を促進することが明らかとなった (図 2)。さらに, indomethacin の前投与は TNF- α による MIP-2 誘導を増幅することが明らかとなった (図 3)。すなわち, Con A 肝障害モデルにおいて NSAIDs は TNF- α や IFN- γ 産生を促進し肝細胞の apoptosis を誘導するとともに, MIP-2 産生を促進し肝組織中多核白血球の遊走, 活性化により免疫学的肝細胞障害を増悪させることが示唆された。

NSAIDs の消化管粘膜障害の機序としては,

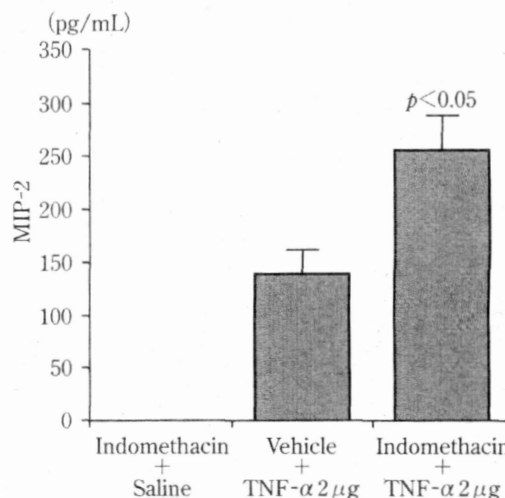


図 3 TNF- α による MIP-2 の誘導と indomethacin 前投与の影響

NSAIDsによる粘膜内TNF- α 産生亢進と引き続いて起こる粘膜内多核白血球浸潤が微小循環障害を引き起こすことが報告されている⁸⁻¹⁰⁾。また、多核白血球浸潤にはTNF- α による血管内皮細胞のICAM-1発現やMIP-2と相同性のCXCケモカインであるIL-8誘導が関与し、NSAIDsはTNF- α によるIL-8誘導を増強することも報告されており^{10,11)}、今回のわれわれの知見と一致していると考えられる。

一方、NSAIDsにより肝内の多核白血球が増加することや¹²⁾、慢性エンドトキシン投与による肝類洞内多核白血球粘着数がNSAIDsにより増加することが報告されている¹³⁾。しかし、これらの報告では多核白血球浸潤に関するサイトカインやケモカインの関与については明らかにされていない。われわれはTNF- α によるMIP-2産生機序にプロスタグランジン(PG)系が関与することを報告したが⁷⁾、PG産生調節にはCOX-1、COX-2が関与する。今回用いたindomethacinはCOX-1、COX-2非選択性薬剤であり、また、COX-2選択性のNSAIDsは消化管粘膜障害作用が弱いことが知られている。今後COX-1、COX-2それぞれの選択性NSAIDsが免疫学的肝細胞障害において異なる作用を有するか否かについて検討を行う必要があると考えられる。

結 語

Con A肝障害モデルにおいて、NSAIDsはTNF- α やIFN- γ などの炎症性サイトカインやCXCケモカインであるMIP-2産生を促進し、肝細胞障害発症を増悪させた。今後さらに詳細な作用機序について検討が必要であると考えられる。

文 献

- 1) Rabinovitz M, Van Thiel DH. Hepatotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 1696-704.
- 2) Bjorkman D. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated toxicity of liver, lower gastrointestinal tract, and esophagus. *Am J Med* 1998; 105 (5A): S17-21.
- 3) Tiegs G, Hentschel J, Wendel A. A T cell-dependent experimental liver injury in mice inducible by Concanavalin A. *J Clin Invest* 1992; 90: 196-203.
- 4) Gantner F, Leist M, Lohse AW, Germann PG, Tiegs G. Concanavalin A-induced T-cell-mediated hepatic injury in mice: the role of tumor necrosis factor. *Hepatology* 1995; 21: 190-8.
- 5) Küsters S, Gantner F, Künstle G, Tiegs G. Interferon gamma plays a critical role in T cell-dependent liver injury in mice initiated by Concanavalin A. *Gastroenterology* 1996; 111: 462-71.
- 6) Nakamura K, Okada M, Yoneda M, Takamoto S, Nakade Y, Tamori K, et al. Macrophage inflammatory protein-2 induced by TNF- α plays a pivotal role in concanavalin A-induced liver injury in mice. *J Hepatol* 2001; 35: 217-24.
- 7) Nakamura K, Ito T, Yoneda M, Takamoto S, Nakade Y, Okamoto S, et al. Antithrombin III prevents concanavalin A-induced liver injury through inhibition of macrophage inflammatory protein-2 release and production of prostacyclin in mice. *J Hepatol* 2002; 36: 766-73.
- 8) Santucci L, Fiorucci S, Di Matteo FM, Morelli A. Role of tumor necrosis factor release and leukocyte margination in indomethacin-induced gastric injury in rats. *Gastroenterology* 1995; 108: 393-401.
- 9) Appleyard CB, McCafferty D-M, Tigley AW, Swain MG, Wallace JL. Tumor necrosis factor mediation of NSAID-induced gastric damage: role of leukocyte adherence. *Am J Physiol* 1996; 270: G42-48.
- 10) Shiotani A, Yamaoka Y, El-Zimaity HMT, Saeed MA, Qureshi WA, Graham DY. NSAID gastric ulceration; predictive value of gastric pH, mucosal density of polymorphonuclear leukocytes, or levels of IL-8 or nitrite. *Dis Dis Sci* 2002; 47: 38-43.
- 11) Martich GD, Danner RL, Ceska M, Suffredini AF. Detection of interleukin 8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin: the effect of anti-inflammatory agents. *J Exp Med* 1991; 173: 1021-4.
- 12) Yamamura S, Arai S, Toyabe S, Takahashi HE, Abo T. Simultaneous activation of granulocytes and extrathymic T cells in number and function by excessive administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cell Immunol* 1996; 173: 303-11.
- 13) Hoffmann JN, Vollmar B, Inthorn D, Schildberg FW, Menger MD. Antithrombin reduces leukocyte adhesion during chronic endotoxemia by modulation of the cyclooxygenase pathway. *Am J Physiol* 2000; 279: C98-107.