

# AMCoR

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

薬理と治療 (2004.12) 32巻Suppl.2:S151～S154.

【肝病態生理研究のあゆみ】

Concanavalin A誘発マウス肝障害モデルにおける内因性Prostaglandin系の関与

岡本 聡, 玉木陽穂, 横浜吏郎, 岡田充巧, 麻生和信, 中村  
公英, 羽田勝計, 米田政志

# 11. Concanavalin A 誘発マウス肝障害モデル における内因性 Prostaglandin 系の関与

旭川医科大学 第二内科

岡本 聡 玉木 陽穂 横浜 吏郎  
岡田 充巧 麻生 和信 中村 公英  
羽田 勝計

獨協医科大学 消化器内科

米田 政志

## Endogenous Prostaglandins Plays a Role in Concanavalin A-induced Liver Injury in Mice

Satoshi Okamoto<sup>1)</sup>, Yosui Tamaki<sup>1)</sup>, Shirou Yokohama<sup>1)</sup>,  
Mitsuyoshi Okada<sup>1)</sup>, Kazunobu Aso<sup>1)</sup>, Kimihide Nakamura<sup>1)</sup>,  
Masakazu Haneda<sup>1)</sup> and Masashi Yoneda<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Second Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical College

<sup>2)</sup>Department of Gastroenterology, Dokkyo University School of Medicine

### はじめに

さまざまな炎症性疾患において、内因性 prostaglandin (PG) が病態や病変部の修飾に重要な役割を果たしていることが知られているが、肝疾患における関与については十分解明されていない。concanavalin A (Con A) 誘発マウス肝炎モデルは、Con A により肝内に T リンパ球が浸潤し、その後肝小葉内に広範な肝細胞壊死が生じる<sup>1~3)</sup>。われわれはこれまでに Con A 投与後早期に種々のサイトカインやケモカインが血中に増加し、肝障害の増悪因子として働くことを報告してきた<sup>4,5)</sup>。今回 nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) を用い、内因性

PG 系の Con A 肝障害モデルに対する関与と Con A 投与後のサイトカイン、ケモカイン産生能に対する影響を検討した。

### I 方 法

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 の生食に溶解し、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。NSAIDs として indomethacin (Wako 社) 5 mg/kgBW を 1%NaHCO<sub>3</sub>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 2, 4, 8, 24 時間後の血中 ALT 値を酵素法で、血中

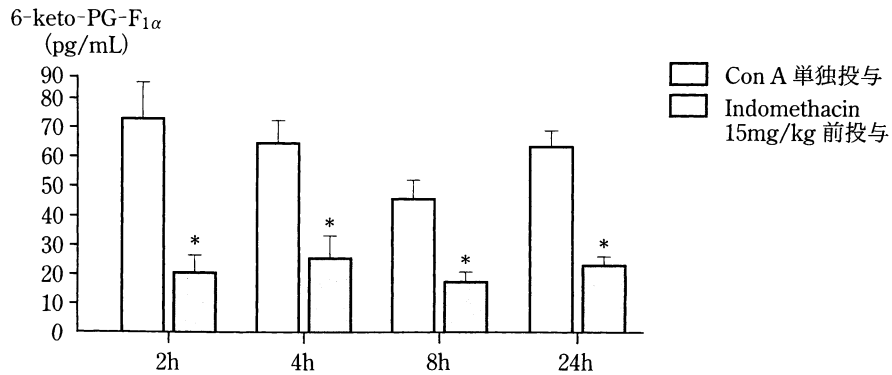


図 1 Indomethacin 前投与による 6-keto-PG-F<sub>1α</sub> の抑制効果  
\**p* < 0.01

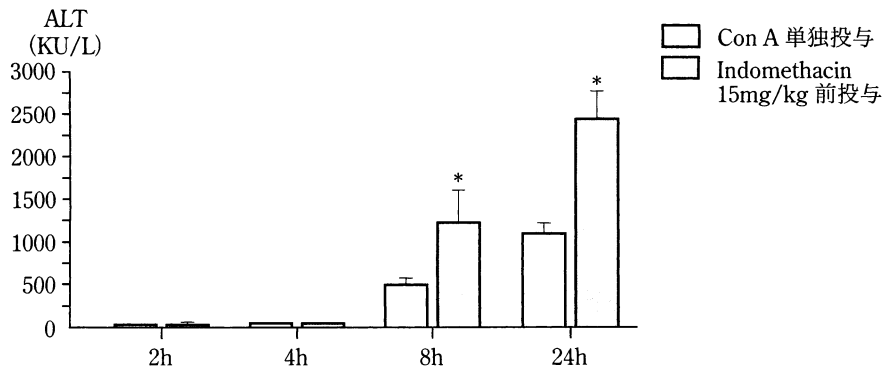


図 2 Con A 肝障害に対する Indomethacin 前投与の影響  
\**p* < 0.01

TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , MIP-2 と prostacyclin の安定代謝物である 6-keto-PG-F<sub>1 $\alpha$</sub>  値 (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  ; Genzyme 社, MIP-2 ; IBL 社, 6-keto-PG-F<sub>1 $\alpha$</sub>  ; Cayman 社キット) を ELISA 法で測定した。また, 15 mg/kgBW の Con A 投与後, マウス TNF- $\alpha$  (IBL 社) 2  $\mu$ g を 0.2 mL の生食に溶解, 静注し, 2 時間後の血中 MIP-2 産生能に対する NSAIDs の影響について検討した。

## II 結 果

### 1 Con A 肝障害に対する内因性 prostacyclin の関与

NSAIDs を前投与することにより Con A 投与後いずれの時間においても血中 6-keto-PG-F<sub>1 $\alpha$</sub>  値は対照群に比べ有意に低下した (図 1)。

### 2 Con A 肝障害に対する NSAIDs の影響

NSAIDs 前投与により, Con A 投与 8, 24 時間後の血中 ALT 値は対照群に比べ有意に上昇した (図

2)。

### 3 Con A 投与後の血中 cytokine, chemokine 産生に対する NSAIDs の影響

NSAIDs 前投与により Con A 投与後の血中 TNF- $\alpha$  値はいずれの時間においても有意な変化を認めなかった (図 3 a) が, 血中 IFN- $\gamma$  値は Con A 投与 4, 8 時間後において NSAIDs 群で有意に高値であった (図 3 b)。また, 血中 MIP-2 値も Con A 投与 2 時間後において NSAIDs 群で有意に高値であった (図 3 c)。

### 4 TNF- $\alpha$ による MIP-2 の誘導と NSAIDs 前投与の影響

recombinant TNF- $\alpha$  による血中 MIP-2 産生能は NSAIDs の前投与により有意に上昇した (図 4)。

## III 考 察

Con A 誘発マウス肝障害モデルの発症機序として

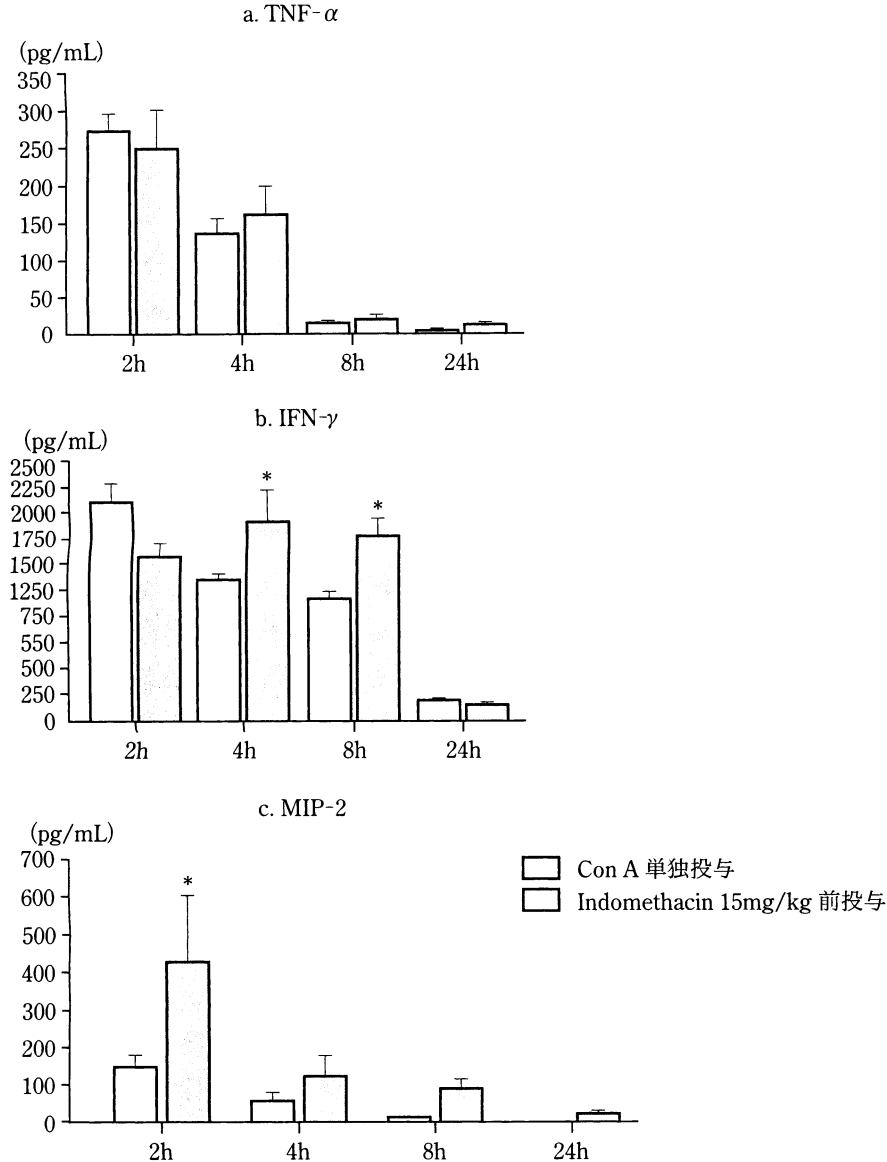


図 3 各種サイトカイン・ケモカイン産生に対する Indomethacin の影響  
\* $p < 0.01$

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<sup>1~3)</sup>。その発症に関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- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  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- $\alpha$  によりマウス CXC ケモカインの 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いだし<sup>4)</sup>、さらに、抗凝固剤である AT-III が MIP-2 産生抑制と prostacyclin 産生を介して肝障害発症を抑制することを報告した<sup>5)</sup>。

今回の検討では、indomethacin の前投与は、Con A 肝細胞障害を増悪させ (図 1)、また、その作用機序としては内因性 prostacyclin の産生を抑制し (図 2)、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、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 3)。さらに indomethacin の前投与は TNF- $\alpha$  による MIP-2 誘導を増幅することが明らか

結 語

Con A 肝障害モデルは免疫学的肝細胞障害の発症機序とその治療法を検討するうえで有用なモデルとなると考えられた。

文 献

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) Kusters S, Gantner F, Kunstle G, Tiegs G. Interferon gamma plays acritical role in T cell-dependent liver injury in mice initiated by Concanavalin A. *Gastroenterology* 1996 ; 111 : 462-71.
- 4) Nakamura K, Okada M, Yoneda M, Takamoto S, Nakade Y, Tamori K, et al. Macrophage inflammatory protein-2 induced by TNF- $\alpha$  plays a pivotal role in concanavalin A-induced liver injury in mice. *J Hepatol* 2001 ; 35 : 217-24.
- 5) 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.
- 6) Eisenhut T, Shinba B, Grottrup-Wolfers E, et al. Prostacyclin analogs suppress the synthesis of tumor necrosis factor-alpha in LPS-stimulated human peripheral blood mononuclear cells. *Immunopharmacology* 1993, 26 : 259-64.

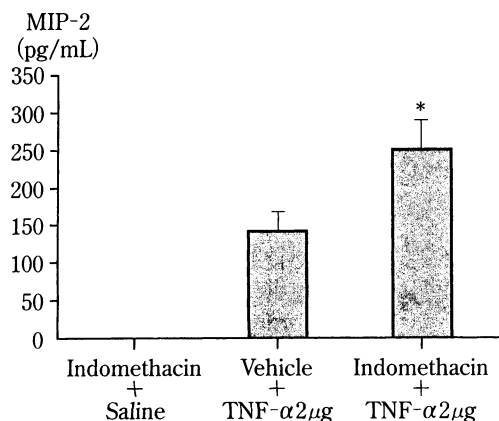


図 4 TNF- $\alpha$  による MIP-2 の誘導と Indomethacin 前投与の影響

\* $p < 0.05$

となった(図4)。すなわち, Con A 肝障害モデルにおいて NSAIDs は内因性 PG 系を抑制する一方で TNF- $\alpha$  や IFN- $\gamma$  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。

prostacyclin は単球に作用し, 単球からのサイトカイン産生を抑制することが報告されている<sup>6)</sup>。indomethacin の直接的な TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , MIP-2 などの産生促進に加えて prostacyclin の産生抑制を介してこれらのサイトカイン, ケモカインの産生促進に働いている可能性も考えられる。

Con A 肝障害の発症機序には内因性 PG 系が関与し, NSAIDs による内因性 PG 産生の抑制は炎症性サイトカインやケモカインの産生を促進し, Con A 肝障害を増悪させる可能性が示唆された。今後作用機序についてさらに検討が必要である。

\* \* \*