

論文内容要旨

論文題目

アルデヒド還元酵素(Akr1a)欠損マウスのアスコルビン酸欠乏によるアセトアミノフェン中毒の悪化は抱合反応の協調的亢進に関連する

所属講座： 麻酔科学 講座

氏名： 木村 相樹

【内容要旨】

アセトアミノフェン(*N*-acetyl-*p*-aminophenol: APAP)は安全な解熱鎮痛剤として広く使用されている。処方薬としてだけではなく市販薬にも含まれている場合があり、認識せずに過量摂取する危険があるため、APAPによる薬剤性肝障害は世界的な問題となっている。APAPの過量摂取は急性肝障害を引き起こし、適切な治療が行われなければ死に至ることもある。摂取したAPAPは主にグルクロン酸抱合反応と硫酸抱合反応を受けるが、一部はグルタチオン抱合反応を受けて代謝される。APAP代謝中間体によるミトコンドリア機能不全に加えて、酸化障害に対する感受性が増大するが、これは抱合反応によってグルタチオン(GSH)が消費され、抗酸化系に機能不全が起こるためと考えられている。一方、アスコルビン酸(AsA)にはAPAP肝障害を軽減する作用がある。本研究では、AsA欠乏マウスにAPAPを過量投与(400mg/kg)し、これらの抱合反応が肝毒性にどのように関与しているか解明することを目的とした。

霊長類と異なりマウスなどのほとんどの動物はグルコースからAsAを合成し欠乏状態にはならないため、本研究ではAsA合成能が低下しているアルデヒド還元酵素遺伝子(Akr1a)欠損(KO)マウスを用いて野生型(WT)マウスとの比較検討を行った。APAP投与0, 3, 6, 12, 24時間後に肝臓・血漿・尿を採取し、血中のALT・AST・BUN・Crの測定、肝障害についての組織学的検討、APAP代謝産物およびGSH関連化合物の液体クロマトグラフィー-質量分析機による定量解析、さらに肝のmRNAに関して定量的PCRを行った。その結果、KOマウスはWTマウスに比べて早期に肝障害を示した。KOマウスでは、アルデヒド還元酵素の基質であるグルクロン酸が顕著に増加しており、APAP-グルクロン酸抱合体の量も早期に増加していた。またKOマウスでは、APAP-グルタチオン抱合体の分解産物であるAPAP-システイン抱合体とAPAP-硫酸抱合体も増加しており、いずれの抱合反応も亢進していた。さらに、KOマウスでは抱合反応を担う遺伝子のmRNAの発現がそれぞれ亢進していた。一方で、尿中のGSHとその前駆体であるシステインについては、WTマウスでは増加する傾向にあったが、KOマウスではその程度は小さく、GSH依存性の抗酸化系が障害されている可能性が示唆された。AsAには強い抗酸化力があるため、その欠乏は酸化ストレスをもたらす。抱合反応は大量のエネルギー消費を伴うため、ミトコンドリア障害によりエネルギー産生能の低下した肝細胞における抱合反応の亢進は、細胞を強く障害する可能性がある。AsAを欠乏しているKOマウスでは、APAPによるミトコンドリア障害に加えて、亢進した抱合反応によるエネルギー消費が肝障害の悪化に関与したと結論した。

令和4年 1月 12日


山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：木村 相樹

論文題目：アルデヒド還元酵素 (Akrla) 欠損マウスのアスコルビン酸欠乏によるアセトアミノフェン中毒の悪化は抱合反応の協調的亢進に関連する

審査委員：主審査委員 山崎健太郎 

副審査委員 太田康之 

副審査委員 山口浩明 

審査終了日： 令和4年 1月 5日

【 論文審査結果要旨 】

アセトアミノフェン(APAP)は解熱鎮痛薬として広く使用されているため、過量服用による急性中毒や長期服用による肝障害等の臓器障害に関する病態解明や治療は重要である。APAPは体内で、グルクロン酸抱合、硫酸抱合の2経路の他に、一部はグルタチオン抱合により代謝され、尿中に排泄される。この代謝経路のうちグルクロン酸抱合に必要なグルクロン酸はアスコルビン酸(ビタミンC)合成経路の中間代謝産物であるため、アスコルビン酸合成とグルクロン酸抱合とは密接な関係にある。マウスはヒトと異なりアスコルビン酸を生体内で合成することができるため、APAPの代謝がヒトと異なる可能性がある。本研究では、ヒトと同様に生体内でのアスコルビン酸合成機能が抑制されているアルデヒド還元酵素 (Akrla) 欠損(KO)マウスにAPAPを過量投与し、代謝経路となるこれら3種の抱合反応が肝毒性にどのように関与しているかを検討した。

実験内容はアスコルビン酸合成が正常に行われる野生型(WT)マウスとKOマウスにAPAPを過量投与して、APAP過量投与から死亡までの経過時間、組織学的な肝細胞壊死と血漿中肝細胞逸脱酵素(ALT,AST)濃度上昇までの経過時間と、尿中・肝細胞内代謝産物濃度の経時的変化、抱合反応に必要な酵素を産生するための遺伝子のmRNA発現、そして同遺伝子の発現制御に関わる転写調整因子発現について両者の差をみている。

実験の結果KOマウスはWTマウスに比較して、死亡までの経過時間が早く、肝細胞壊死の領域面積が早期に広くなり、逸脱酵素の上昇も早期からみられた。さらに、KOマウスでは尿中代謝産物であるグルクロン酸抱合APAP、硫酸抱合APAP、グルタチオン抱合APAPの分解産物であるシステイン抱合APAPのみならずグルクロン酸抱合に用いられるグルクロン酸の各濃度がWTマウスに比較して高かった。一方、各抱合反応を制御する遺伝子(Ugt1a1,Sult1a1,Gsta1)の発現も亢進していたが、遺伝子発現に関わる転写調整因子(Nrf2)の遺伝子発現では両者に有意差を認めなかった。これらの結果から、アスコルビン酸が欠乏するKOマウスではAPAP過量投与により、3経路の抱合反応が亢進し、その結果発生した大量のエネルギー消費と、エネルギー消費によるミトコンドリア障害が肝障害の悪化をもたらしていると推測された。

本研究ではAPAPの過量投与時のアスコルビン酸欠乏による影響を、多方面から検討しているが、過量投与と臓器障害との関係を直接証明はしていないことや、実験データが膨大であるためデータ解析の説明がやや不十分である等の課題は残った。しかし、APAP中毒について多くの知見を得ることができ、動物実験ではあるがヒトのAPAP中毒にも応用可能な研究内容と考えられるため、医学博士の学位論文に値すると判定した。

(1, 200字以内)