

## 研究論文紹介

# ラット肝臓におけるチオアセトアミドによる酸化ストレス、 マイトジェン活性化タンパク質キナーゼの活性化と壊死に与える ジメチルスルホキシドの効果

奈良女子大学食物栄養学科\*

岸岡 輝実, 飯田ちなつ, 藤井こずえ, 長江 律子  
大西 優希, 市 育代, 小城 勝相

Vitamins (Japan), **81** (12), 617-618 (2007)

## Effect of dimethyl sulphoxide on oxidative stress, activation of mitogen activated protein kinase and necrosis caused by thioacetamide in the rat liver

Terumi Kishioka, Chinatsu Iida, Kozue Fujii, Ritsuko Nagae, Yuki Onishi,  
Ikuyo Ichi, and Shosuke Kojo

[*Eur J Pharmacol* **564**, 190-195 (2007)]

Department of Food Science and Nutrition, Nara Women's University

マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) は細胞増殖, アポトーシスなどの細胞内シグナル伝達を行うことで注目されているタンパク質キナーゼで, それら自身が上流のタンパク質キナーゼによるリン酸化で活性化される。MAPK の代表的なものが, JNK (c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase), ERK (extracellular signal-related kinase), p38 MAPK と呼ばれる 3 種類である。MAPK の研究は培養細胞を用いたものがほとんどであり, 動物組織での活性化を扱った研究は少ない。MAPK は活性酸素種 (ROS) によっても活性化されるといわれているが ROS との関係について, その時間経過を検討した例すら少数の研究<sup>1)-3)</sup> 以外は見あたらない。

本研究では, 酸化ストレスによって Caspase-3 活性化を伴うアポトーシスと広汎な壊死が引き起こされるチオアセトアミド中毒<sup>4)</sup> のラット肝臓における酸化ストレスと MAPK の関係について時間経過を含めて検討した。肝臓の酸化ストレスの評価には一連の研究で最も鋭敏と考えられるビタミン C (C)<sup>5)</sup> を用いた。

ラット腹腔にチオアセトアミド (400mg/kg) を投与した。血漿 AST, ALT は 6 時間後には生理食塩水を投与した対照群と比較して変化はないが 12 時間後, 有意に上昇し 24 時間後に最大値に到達した。肝臓の C は投与 6 時間後には変化はなく, 12 時間後に対照群の 60% まで有意に低下し, 24 時間後には対照群の 30% まで低下した。この結果は投与 12 時間以降, 肝臓に酸化ストレスが充進していることを示した。チオアセトアミド投与の 18, 1 時間前と 8 時間後の 3 回ジメチルスルホキシド (DMSO) を 2.5ml/kg 経口投与 (チオアセトアミドのみを投与したラットには比較のため同じ時間に水を 2.5ml/kg 経口投与) すると, 12, 24 時間後の AST, ALT の上昇も C の減少も完全に抑制された。DMSO は以前からラジカル捕捉剤として知られており, C の減少が抑制されたという結果はこれを支持する。即ち DMSO が酸化ストレスを軽減した結果, 肝細胞壊死が抑制されたと考えられる。

細胞死を引き起こすとされる JNK のリン酸化は C が減少するチオアセトアミド投与 12 時間後に有意に充進し

\*〒 630-8506 奈良市北魚屋西町

た。この結果は酸化ストレスの亢進と JNK 活性化がほぼ同時に起こることを意味しており、酸化ストレスが JNK を活性化する原因であるとしても結果をもたらすまでに迅速な反応が起こっており、両者は緊密にリンクしていることをうかがわせる。リン酸化された p38 MAPK はチオアセトアミド投与後 24 時間で有意に減少した。JNK と p38 MAPK は似た挙動をすることが多くの研究で知られているが、チオアセトアミド中毒の肝臓では調節機構は異なることがわかった。

一方、生存シグナルと考えられている ERK2 はチオアセトアミド投与後 6-12 時間の早い段階でリン酸化が亢進していた。投与 6 時間後は C に変化が現れる以前である。MAPK の活性化と酸化ストレスを定量的に扱った研究は少ないが、培養ラット肝細胞を用いた実験で ERK2 は 100  $\mu$ M の過酸化水素で活性化されることがわかっている<sup>6)</sup>。肝臓での C の濃度は 2,000  $\mu$ M であり、100  $\mu$ M の変化を検出することは困難である。化学的指標の中では C は鋭敏であるが、100  $\mu$ M の ROS で反応する ERK2 は C よりも鋭敏な酸化ストレス指標になるかもしれない。

以前トピックス<sup>7)</sup>で紹介したように過酸化水素は、タンパク質チロシンホスファターゼ (PTP) を可逆的に阻害する。PTP は活性中心に反応性の高いシステイン残基を持つので、過酸化水素で定量的に酸化される。酸化型に酵素活性はなく、結果としてタンパク質の脱リン酸化が阻害され、特定のリン酸化タンパク質が蓄積する。これと類似の反応性を持つタンパク質が ERK2 のリン酸化に関与するようであれば、少量の ROS にも迅速に対処できるだけでなく大量に存在する C よりも結果として鋭敏な指標になることは十分考えられる。

DMSO はチオアセトアミドによる上記 MAPK の変化を全て有効に阻害した。DMSO が抗酸化作用を持つこと、

かつ 2.5ml/kg という大量投与が可能であることから酸化ストレスの軽減によって肝臓の壊死も MAPK 活性化も抑制したと考えられる。

(平成 19.5.4 受付)

## 文 献

- 1) Nishioka H, Kishioka T, Iida C, Fujii K, Ichi I, Kojo S (2006) Activation of mitogen activated protein kinase (MAPK) during D-galactosamine intoxication in the rat liver. *Bioorg Med Chem Lett* **16**, 3019-3022
- 2) Iida C, Fujii K, Koga E, Washino Y, Ichi I, Kojo S (2007) Inhibitory effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on necrosis and oxidative stress caused by D-galactosamine in the rat liver. *J Nutr Sci Vitaminol* **53**, 160-165
- 3) Iida C, Fujii K, Kishioka T, Nagae R, Onishi Y, Ichi I, Kojo S (2007) Activation of mitogen activated protein kinase (MAPK) during carbon tetrachloride intoxication in the rat liver. *Arch Toxicol* **81**, 489-493
- 4) Sun F, Hayami S, Ogiri Y, Haruna S, Tanaka K, Yamada Y, Tokumaru S, Kojo S (2000) Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. *Biochim Biophys Acta* **1500**, 181-185
- 5) Kojo S (2004) Vitamin C, basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Curr Med Chem* **11**, 1041-1064
- 6) Rosseland CM, Wierod L, Oksvold MP, Werner H, Ostvold, AC, Thoresen GH, Paulsen RE, Huitfeldt HS, Skarpen E (2005) Cytoplasmic retention of peroxide-activated ERK provides survival in primary cultures of rat hepatocytes. *Hepatology* **42**, 200-207
- 7) 小城 勝相 (2005) バイオファクター (シグナル伝達物質) としての過酸化水素. *ビタミン* **79**, 334-337