

研究論文紹介

D-ガラクトサミンによって引き起こされるラット肝臓の
アポトーシスと壊死における酸化ストレスの評価奈良女子大学食物¹, 上越教育大学生生活・健康系²孫 芳¹, 濱川 愛理¹, 筒井 千裕¹, 阪口 尚美¹, 角田 百合¹
得丸 定子², 小城 勝相¹

Vitamins (Japan), 77 (7), 357-358 (2003)

Evaluation of Oxidative Stress during Apoptosis and Necrosis Caused by
D-Galactosamine in Rat LiverFang SUN¹, Eri HAMAGAWA¹, Chihiro TSUTSUI¹, Naomi SAKAGUCHI¹, Yuri KAKUTA¹,
Sadako TOKUMARU², Shosuke KOJO¹

[Biochem Pharmacol, 65, 101-107 (2003)]

¹Department of Food Science and Nutrition, Nara Women's University²Department of Life and Health Sciences, Joetsu University of Education

D-ガラクトサミン(GalN)は、UTPの枯渇、タンパク質合成の阻害などにより、典型的な肝細胞壊死を引き起こすことが知られている。我々はGalNを投与したラット肝臓でのアポトーシスと壊死の誘導、並びに酸化ストレスを評価した。

6週齢Wistar系雄ラットにGalN(1g/kg b.w.)を腹腔内投与し、対照群には生理食塩水を投与した。GalN投与18時間後、血漿GOTは大きく増加し、24時間後には2500Uまで上昇した。同時に血漿中のCaspase-3活性も、0.06 pmol/mg protein/min(対照群)から16.7まで有意に急激に増加した。同時に肝臓でも、Caspase-3活性は18時間以降有意に上昇した。この結果は、広範な壊死と共にアポトーシスを起こした肝細胞がsecondary necrosisを起こし、これらの酵素が血中へ漏出したためと考えられる。血中のCaspase-3とGOTの比は、チオアセトアミド¹⁾や四塩化炭素²⁾の場合と同様、肝臓でのアポトーシスの関与を知るためのよい指標になることが分かった。

GalNによるCaspase-3の活性上昇は、以前に報告し

たチオアセトアミド¹⁾や四塩化炭素投与²⁾の場合より、肝臓、血漿ともにはるかに大きかった。これは、GalNによる細胞死にTNF- α が関与すること、TNF- α は肝細胞にCaspase-3活性化を伴うアポトーシスを引き起こすことが関係していると考えられる。実際肝臓組織をTUNEL法で染色することにより、アポトーシスを起こした細胞を確認した。

表1. ラット肝臓における酸化ストレス指標の変化。

	C	E	LOOH
糖尿病 ³⁾	↓	↑	↑
四塩化炭素 ²⁾⁴⁾	↓	→	→ (肝臓全体) ↑ (ミトコンドリア)
チオアセトアミド ¹⁾	↓	↓	↑
D-ガラクトサミン	↓	↑	↑

↑: 増加, →: 変化なし, ↓: 減少を示す

肝臓では、ビタミンC(C)濃度は投与後 18 時間以後に対照群の半分程度にまで減少した。一方、ビタミンE (E)濃度は 18 時間後、血漿では減少し、肝臓では有意に増加した。これは、酸化ストレスが起こる臓器ではEは血漿から動員されていることを示している。脂質ヒドロペルオキシド(LOOH)は 24 時間後に有意に増加した。以上より、GalN は肝細胞に投与 18 時間以降に酸化ストレスを引き起こしていると考えられる。

これまで我々は、ストレプトゾトシン糖尿病³⁾や化学物質(チオアセトアミド¹⁾、四塩化炭素²⁾⁴⁾による肝障害における酸化ストレスを、C、E、LOOHを用いて評価してきた。結果を表1に示す。Cの減少は常にLOOHの上昇と対応しているが、Eの変化には対応しない。そしてCの減少は常にLOOHの上昇より早期に起こった。以上から、酸化ストレスの指標としてはCが最も鋭敏であると結論できる。Eは、酸化ストレスのかかった組織に動員されるために必ずしも酸化ストレスの指標にはならないが、生体の防御という観点から見るとCとは違い、積極的に動員される機構があることが分かる。

(平成 15. 2. 19 受付)

文 献

- 1) 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
- 2) Sun F, Tsutsui C, Hamagawa E, Ono Y, Ogiri Y, Kojo S (2001) Evaluation of oxidative stress during apoptosis and necrosis caused by carbon tetrachloride in rat liver. *Biochim Biophys Acta* **1535**, 186-191
- 3) Sun F, Iwaguchi K, Shudo R, Nagaki Y, Tanaka K, Ikeda K, Tokumaru S, Kojo S (1999) Change in tissue concentrations of lipid hydroperoxides, vitamin C and vitamin E in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci* **96**, 185-190
- 4) Ikeda K, Toda M, Tanaka K, Tokumaru S, Kojo S (1998) Increase of lipid hydroperoxides in liver mitochondria and inhibition of cytochrome oxidase by carbon tetrachloride intoxication in rats. *Free Radic Res* **28**, 403-410