

## Prolonged oxidative stress and delayed tissue repair exacerbate acetaminophen-induced liver injury in aged mice

Aging (Albany NY) 2020 Oct; 12(19): 18907-18927. doi. org/10.18632/aging.103973

Naoki Tanimizu, Norihisa Ichinohe, Hiromu Suzuki, Toshihiro Mitaka

**要旨** マウスにアセトアミノフェンを投与して急性劇症肝炎を誘導すると、中心静脈域にネクロシスによる大量の肝細胞死が誘導される。障害後は、速やかに障害が解消され、障害後 48 時間後には活発な肝細胞増殖が誘導され、組織再生が進行する。老齢マウスでは、アセトアミノフェン代謝産物の処理能力低下による障害の持続、障害部位へのマクロファージ集積低下による死細胞の残存、肝細胞増殖能の低下、などによって障害の持続と再生の遅延が認められた。本研究の結果は、加齢が薬剤の肝毒性を高めるリスクファクターとなる場合があることを示している。

### 1. 背景

肝臓は再生能力が高い臓器として知られている。マウスやラットに対して、肝毒性を示す薬剤で一過性の肝細胞死を誘導したり、肝臓の 70% 程度を外科的に切除（部分肝切除）したりしても、残存肝細胞の増殖によって 1 週間程度で元の臓器サイズ・機能を回復する。しかしながら、慢性的な肝障害のために繰り返される再生反応や、個体の加齢などによって、肝臓の再生能力は低下する<sup>1)</sup>。

治療薬として用いられる化合物の多くは、肝臓に運ばれ、肝細胞が発現する cytochrome p450 (CYP) の作用によって代謝される。薬剤の過剰摂取や代謝産物の示す毒性による肝障害は Drug induced liver injury (DILI) と総称されている。解熱鎮痛剤として広く使用されているアセトアミノフェン (Acetaminophen: APAP) は、大部分が肝細胞でグルクロン酸あるいはスルホン酸との抱合反応を受け胆汁中に排出されるが、一部は CYP2E1 の作用によって N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) に変化する。NAPQI も還元型グルタチオンとの反応によって無毒化されるが、APAP 過剰摂取により NAPQI 量が増加すると肝細胞が障害される。現在でも、世界中で APAP の過剰摂取が原因での死亡例が報告されている。これまでに、加齢は APAP の使用に対するリスクファクターとはならないとの報告がある一方で、加齢が APAP のクリアランス速度に影響を与えると報告もある<sup>2)</sup>。同じく解熱剤として使用されている NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drug) は潰瘍性大腸炎や腎障害の患者への使用が推奨されな

いこと、今後、ますます高齢者人口が増加していくことを踏まえると、APAP が高齢患者に処方される機会は増加していくと予想される。

### 2. 実験方法

本研究では 10 週令 (若齢) と 80 週令 (老齢) の雄マウスに対して一晩絶食処理をした後に 300mg/kg の APAP を腹腔内投与した。48 時間後、若齢マウスは 80% 生存していたが、老齢マウスでは生存率が 40% 程度に低下した。細胞増殖に関する遺伝子発現を比較したところ、若齢マウスでは 48 時間後に Cdk1, Ccnd1 が誘導されるなど細胞増殖が観察されたが、老齢マウスにおいてはこれらの増殖反応が抑制されていた。しかしながら、APAP 投与後 24 時間以内にすでに死亡する老齢マウスが存在していることから、肝細胞の増殖能低下以外にも、障害を悪化させるメカニズムが存在していると考えた。

### 3. 結果

肝障害マーカー (glutamate-oxaloacetate transaminase: GOT) の経時的変化を調べると、若齢マウスでは 8 時間後に非常に高い血中 GOT 活性を示すが、48 時間後にはほぼ正常値に戻る。老齢マウスでは、48 時間後でも GOT 活性が高い (図 1A)。NAPQI の代謝に必要な還元型グルタチオン量の変化を検討したところ、若齢マウスでは一過性に消費された還元型グルタチオンが 24 時間後には速やかに回復するのに対して、老齢マウスではその回復が遅れていた (図 1B)。以上の結果は、老齢マウスにおいて、APAP 投与後の酸化ストレス障害からの回復が遅れて

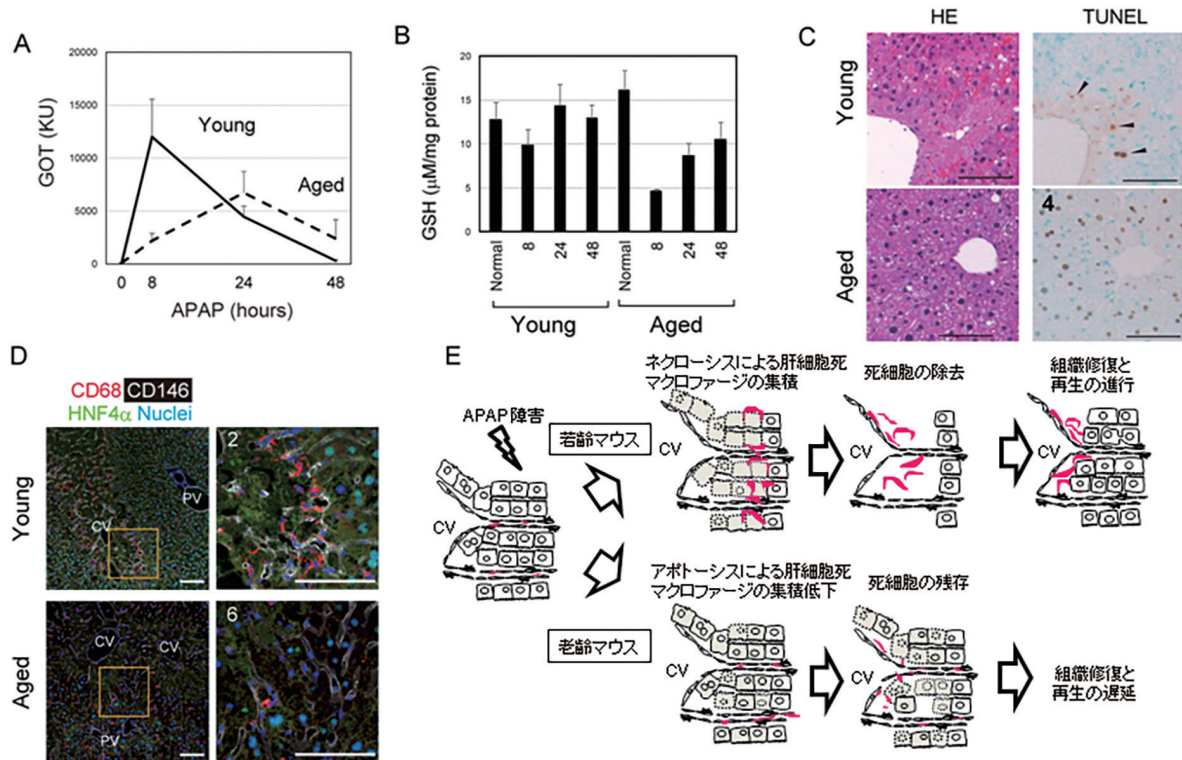


図1 加齢マウスにおけるアセトアミノフェン肝障害の継続と再生遅延

老齢マウスではAPAP投与後の肝障害マーカー GOT値が高い状態が持続する(B)。APAP投与24時間後でも細胞内の還元型グルタチオン量が低いままである(B)。老齢マウスではAPAP8時間後にTUNEL(+)の肝細胞が顕著となるが(C)、障害部位へのマクロファージ集積が認められない(D)。障害の継続と死細胞除去が不十分なため、組織修復と再生が遅延する(E)。

いることを示している。

APAP投与8時間後、若齢マウスではネクロシスして核が消失した肝細胞が観察される。老齢マウスでは、障害部位の肝細胞はTUNEL(+)となっていたが、細胞膜構造や核を維持していた(図1C)。若齢マウスでは、APAP投与後24時間後には、障害部位である中心静脈周囲にCD68(+)マクロファージが集積している様子を観察することができる。ところが、老齢マウスでは、障害部位へのマクロファージの集積が著しく低下していた(図1D)。老齢マウスではAPAP障害後、早期の段階でのCcl2発現の上昇が誘導されず、マクロファージの集積がスムーズに進まず、死細胞が組織にとどまるために、再生反応が誘導されないと考えられる(図1E)。

#### 4. 考察

最近の研究では肝細胞は非常に高い分化可塑性を有していることが示されている<sup>3)</sup>。老齢マウスではAPAP障害時に誘導される脱分化肝細胞の数が減少している(未発表データ)。今後、加齢による肝細胞の分化可塑性の変化が、肝障害および肝再生へ影響を与える影響を明らかにしたいと考えている。

#### 参考文献

1. Pibiri M. Liver regeneration in aged mice: new insights. *Aging* 2018; 10: 1801-1824.
2. Liukas A, Kuusniemi K, Aantaa R, Virolainen P, Niemi M, Neuvonen PJ, and Olkkola KT. Pharmacokinetics of intravenous paracetamol in elderly patients. *Clin Pharmacokinet* 2011; 50: 121-129
3. Tanimizu N, Nishikawa Y, Ichinohe N, Akiyama H, Mitaka T. Sry HMG box protein 9-positive (Sox9+) epithelial cell adhesion molecule-negative (EpCAM-) biphenotypic cells derived from hepatocytes are involved in mouse liver regeneration. *J Biol Chem* 2014; 289: 7589-7598.

#### 谷水 直樹

略歴

1999年 京都大学大学院農学研究科博士後期課程修了

1999年 財)神奈川科学技術アカデミー 幹細胞制御プロジェクト 研究員

2004年 米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校 ポスドク

2007年 東京大学分子細胞生物学研究所 発生再生研究分野 助教

2009年 札幌医科大学医学部附属がん研究所 分子病態病理学部門 講師

2014年 札幌医科大学医学部附属フロンティア医学研究所 組織再生学部門 准教授