



Title	新規ベンズアゼピン誘導体（KF-14363）の肝保護作用に関する研究
Author(s)	吉竹, 郁文
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38375">https://hdl.handle.net/11094/38375</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	吉 竹 郁 文
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 8 5 号
学位授与年月日	平成 4 年 8 月 10 日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	新規ベンズアゼピン誘導体 (KF-14363) の肝保護作用に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 三村 務 (副査) 教 授 近藤 雅臣 教 授 眞弓 忠範 教 授 馬場 明道

### 論 文 内 容 の 要 旨

著者らは新規肝保護薬の開発という観点からKF(KF-14363, ベンズアゼピン誘導体)の肝障害抑制作用, 肝再生促進作用及びそれらの作用機序について検討した。

代表的な中毒性肝障害モデルである四塩化炭素 ( $CCl_4$ ), ガラクトサミン (D-gal) 及びエチオニン (DL-ethionine) 肝障害に対するKFの抑制作用について検討した。マウス  $CCl_4$  肝障害に対してKFは, 30mg/kg以上の用量で有意にGPTの上昇を抑制した。さらにラット  $CCl_4$  肝障害においても同様の結果を得た。従って, KFは $CCl_4$ が代謝され生じるラジカルの産生抑制または捕捉作用を有する可能性が示唆された。ラット D-gal 肝障害によるGOT, GPTの上昇をKFの250mg/kgの1回及び2回投与で有意に抑制し, 総蛋白量も100及び250mg/kgの2回投与群において有意に増加させた。またラット DL-ethionine 肝障害に対してもKFは, 100mg/kg以上の用量で肝TG量を有意に抑制した。D-gal及びDL-ethionine肝障害は共に肝の蛋白合成阻害作用及びエネルギー代謝障害が共通しており, KFはこれらの共通する障害機序に対して改善作用を有している可能性が示唆された。

*Propionibacterium acnes* 加熱死菌を静柱し, 7日後に10 $\mu g$ のlipopolysaccharide(LPS)を静注すると免疫肝障害が生じ, LPS投与24hr後には, 80%以上のマウスは死亡した。これに対しKFの100mg/kg投与群では7及び8hr時で有意に致死を抑制した。また, leukotrieneD<sub>4</sub>およびtumor necrosis factorが関与するD-gal・LPS肝障害においてKFは300mg/kgでGPTの上昇を有意に抑制した。これらのこととはKFが免疫の関与する肝臓病においても有用性が期待できることを示唆している。

少量の $CCl_4$ を長期間投与し作製したラット慢性肝障害において,  $CCl_4$ 投与の5及び8週から10週まで5及び2週間KFを投与した群では, 30及び100mg/kgの用量でGPT, GOT T, ALP及び4-Hyp/TP比の上昇を有意に改善させ, 病理所見においても肝線維化の抑制が認められた。

次に, KFが肝再生促進作用を有するか否かをラットの部分肝切除術を用いて検討した。KFの100mg/kg/day投与群はcontrol群に比べ有意に肝再生率を増加させ, 対照のmalotilate投与群に対しても有意に増加していた。肝再生は肝障害の修復あるいは治癒の機転として重要であり, この点でもKFの有用性が示唆された。

KF の肝障害抑制作用機序を調べるためにラット腹腔内浸出細胞 (PEC) を arachidonic acid(AA), A23187(Ca<sup>++</sup> ionophore) または CCl<sub>4</sub> で刺激し、発生する活性酸素生成に対する作用を検討した。AA, A23187 及び CCl<sub>4</sub> 刺激による chemiluminescence (CL) 生成に対し、KF はそれぞれ 10 μM, 100 μM 及び 1 μM 以上の濃度で有意な抑制作用を示した。一方、用いた KF の濃度ではラット PEC の viability に作用しなかった。細胞内 Ca レベルの増加は、AA 代謝物を遊離し cyclooxygenase および lipoxygenase 経路を介して代謝される間に活性酸素を产生する。従って、KF の肝障害抑制機序のひとつとしてこの経路から生じる活性酸素の生成阻害が考えられる。肝ホモジネートで CCl<sub>4</sub> を代謝させ生成するラジカルに対して、KF は 10 μM 以上の濃度で有意にその生成を抑制したが、SOD は 10<sup>4</sup> U の濃度でラジカル生成を抑制しなかった。このことより KF の CCl<sub>4</sub> 肝障害 (*in vivo*) の抑制作用は肝マイクロゾームによる・CCl<sub>4</sub> 生成を抑制することにより生じている可能性が大きい。また KF は、濃度に依存してヒト線維芽細胞である WI-38 細胞の増殖を抑制したが viability に対して作用せず、KF が線維芽細胞の増殖を直接抑制している可能性が示唆された。一方、低張液による赤血球の溶血及び t-BHP による赤血球の過酸化脂質生成に対して KF は 100 μM 以下の濃度で作用しなかった。以上のことより、KF の肝障害抑制作用には膜安定化及び活性酸素の捕捉作用ではなく、活性酸素及びラジカルの產生抑制作用が重要であると考えられる。

KF の肝再生促進作用機序を調べるために、ミトコンドリア呼吸能、エネルギー代謝及び核酸合成に対する作用について検討した。部分肝切除後のミトコンドリア State 3 呼吸において、部分肝切除 3 hr 後の KF 投与群は正常時の 2 倍以上に増加し、22hr 時においても正常時及び溶媒投与群に対して有意な増加を認めた。KF 投与群の RCR は、3 hr 時で正常時に対して有意に増加した。ADP/O 比において KF 投与群は 22hr 時で溶媒投与群に対して有意な増加を認めた。今回の実験で肝切除後に増大するエネルギー需要への対応は、state3 呼吸の亢進に依存しており、肝切除時の KF の作用は、ADP から ATP を産生する速度を早めているものと考えられる。KF 投与群の肝中 ADP 及び total adenine nucleotide (TAN) は、3 hr 時で、また ATP 及び adenylyate energy charge (ACE) は、3 及び 22hr 時において溶媒投与群に比べ有意な増加を示した。このことは、KF 投与により高エネルギーリン酸化が亢進されて ATP 産生及び ADP の再生が増加した可能性を示唆している。肝 DNA 量では、部分肝切除 1 日後の KF 投与群は非摘出群に対し有意に減少していたが、3 及び 5 日後では非摘出群とほとんど差がなく、溶媒投与群に対して有意に増加していた。肝 RNA 量も肝 DNA 量と同様の傾向を認めた。RNA、DNA の合成促進作用は肝実質細胞増殖につながるため、KF はこれらの合成を促進することにより肝再生を促進させていると考えられる。

以上のことより、KF はミトコンドリアの呼吸能及び高エネルギーリン酸化合物の生成を高め、肝の核酸合成を促進し、これら一連の過程を経て肝再生を促進させるものと考えられる。このように目的とした肝保護作用を有する新規化合物を得ることができ、その作用機序の一端を明らかにすることができた。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は新しい肝保護薬を開発する目的で合成されたベンズアゼピン誘導体の中から KF-14363 を選びその肝障害抑制、肝再生促進作用及びそれらの作用機序を研究したもので以下のような成果を得ている。

- 1) ベンズアゼピン骨格を有する KF14363 (1-[(2-thiazolin-2-yl)amino]acetyl-4-(1,3-dihydro-2-ylidene)-2,3,4,5-tetrahydro-H-1-benzazepin-3,5-dione hydrochloride) を用い各種実験的肝障害モデルに対する作用を検討したところ、KF-14363 は中毒性肝障害モデルの CCl<sub>4</sub> 障害、D-ガラクトサミン肝障害、エチオニン肝障害及び免疫性肝障害モデルの *P.acnes*・LPS 肝障害、D-ガラクトサミン・LPS 肝障害のいずれのモデルにおいても肝障害を抑制し、さらに慢性 CCl<sub>4</sub> 肝障害に対し治療効果を認めた。
- 2) KF-14363 はアラキドン酸、A23187 及び CCl<sub>4</sub> 刺激によるラット腹腔内浸出細胞からの活性酸素生成を抑制し、肝ホモジネートで代謝された CCl<sub>4</sub> のラジカルの生成も抑制した。
- 3) KF14363 はラット部分肝切除後の肝再生を促進した。

4) KF-14363はラット肝のミトコンドリア呼吸能を高め、酸化的リン酸化を促進し、高エネルギーリン酸化合物の産生を高め肝の核酸合成を促進した。

以上のように本論文は新規な構造と作用機作を有する肝保護薬の創造という新知見を得ており、医薬品開発に大きく寄与するものである。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。