



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	https://hdl.handle.net/11094/38375
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

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 加熱死菌を静注し, 7日後に10 μg 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時点で有意に致死を抑制した。また, leukotriene D_4 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, 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^{++} ionophore)または CCl_4 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_4 刺激によるchemiluminescence(CL)生成に対し、KFはそれぞれ $10\mu\text{M}$, $100\mu\text{M}$ 及び $1\mu\text{M}$ 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産生する。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_4 を代謝させ生成するラジカルに対して、KFは $10\mu\text{M}$ 以上の濃度で有意にその生成を抑制したが、SODは 10^4U 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_4 肝障害(*in vivo*)の抑制作用は肝マイクロゾームによる $\cdot\text{CCl}_3$ 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 $100\mu\text{M}$ 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産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State3呼吸において、部分肝切除3hr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、3hr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、3hr時で、またATP及びadenylate 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_4 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_4 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_4 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_4 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。