

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791717

研究課題名(和文)肝虚血再灌流障害時におけるビタミンE誘導体ETS-GS投与の改善効果の検討

研究課題名(英文)Vitamin E derivative ETS-GS reduces liver ischemia-reperfusion injury in rats.

研究代表者

山本 俊介 (Yamamoto, Shunsuke)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：70531747

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：今回の研究でわれわれは新規抗酸化物質であるETS-GSの肝虚血再灌流傷害軽減効果を検討した。使用したラットはWistar系雄性ラットの全身麻酔下肝虚血再灌流傷害モデルであった。軽減効果はETS-GSによる強力な抗酸化作用効果が関連していることが解明され、血液学的にASTやALT、LDHなどのトランスアミナーゼ値の低下および顕微鏡的な組織形態維持として、肝保護効果を新たに確認することができた。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we evaluated the ability of a new vitamin E derivative, ETS-GS, to improve liver I/R injury. Male Wistar Rats received a subcutaneous injection of ETS-GS (10 mg/kg) or saline before experimentally-induced liver I/R injury or sham treatment. The rats were sacrificed after the 60-min ischemia and 24-h reperfusion. We found that ETS-GS treatment attenuated I/R-induced histologic alterations, reduced levels of liver enzymes aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and lactate dehydrogenase (LDH). Taken together, our results demonstrate that ETS-GS attenuates I/R injury in a rat model and suggests that ETS-GS may exert anti-oxidant effects. Accordingly, ETS-GS may have therapeutic potential to treat various clinical conditions involving I/R injury.

研究分野：麻酔科

科研費の分科・細目：集中治療

キーワード：肝虚血再灌流傷害 抗酸化物質 ビタミンE誘導体 ETS-GS

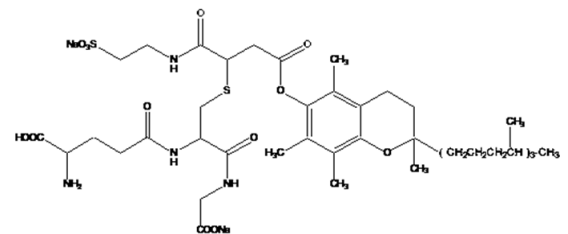
1. 研究開始当初の背景

肝疾患に対する外科治療学の飛躍的な進歩によって、肝臓に対する外科手術あるいは肝移植手術の適応が増加しつつある。肝臓は特に血管に富む臓器であり、手術時には大出血を避けるために、一時的にプリングル法などの手法を用いて肝臓を一時的に虚血状態におくことが必要となる。当然、虚血操作後は血流を再開（再灌流）するが、再灌流後しばしば重篤な肝障害が発生することがあり、この病態（肝虚血再灌流障害）のメカニズム解明と克服が肝臓外科治療の大きな課題である。しかしながら現状では肝虚血再灌流障害に対して有効な医薬品は少なく新規薬剤の開発が待望されている。

我々は肝虚血再灌流障害の原因として再灌流時に産生されるラジカルに注目し、新規抗酸化物質 ETS-GS (L-Glutamyl-S-[2-[[[3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltri-decyl)-2H-1-benzopyran-6-yl]oxy]carbonyl]-3-oxo-3-[(2-sulfoethyl)amino]propyl]-L-cysteinylglycine sodium salt) が肝虚血再灌流障害時のラジカル産生を抑制し、本病態に効果を示すのではないかと仮説をたてた。ETS-GS は抗酸化物質として知られたビタミン E の誘導体である。ビタミン E は油溶性で水溶化には、リン酸エステル、コハク酸エステルなどの誘導体が知られている。しかし、ビタミン E リン酸エステルは 0.1% 以上の濃度では溶血作用が生ずるため、注射剤としては好ましくない。また、ビタミン E コハク酸エステルのカルシウム塩は結晶性で水に不溶性であり、そのナトリウム塩は水溶性ではあるものの不安定である。このようにビタミン E はその強い抗酸化作用にもかかわらずその物質的不安定性のために薬剤としては問題があった。我々は大阪大学医学部麻酔科客員研究員の

緒方一美博士と共同でビタミン E に無水マレイン酸を作用させてビタミン E マレイン酸エステルを合成し、これにシステインやグルタチオンを付加させ、水溶性ビタミン E 誘導体として満足できる安定な化合物を合成し、これにマレイン酸残基にアミンやアミノ酸を結合させた ETS-GS の合成に成功した（下図に化学構造式を示す）。ETS-GS は水溶性で安定性がよく、溶血作用もなく、配合禁忌も見当たらない。我々は、これまでに ETS-GS の虚血再灌流障害に対する劇的な効果に関していくつかの重要な発見を報告している。

ETS-GS



2. 研究の目的

肝臓の外科手術において肝虚血再灌流障害は最も重大な合併症の一つであるが、発症リスクを低減させる予防薬は存在せずまた発症例に対する適切な治療薬も存在しない。我々は最近新規ビタミン E 誘導体である ETS-GS が強力な肝保護効果を有し、虚血再灌流による肝障害に対して著しく有効であることを発見した。ETS-GS はビタミン E 誘導体であるが、水溶性でかつ安定であり、これまでの同種誘導体の欠点がみられない。本研究では、培養細胞ならびにラットを用いた毒性実験ならびに薬理作用の分子メカニズムの解明を推進し、新規薬剤としての臨床応用の道を切り開くことを目的とする。

3. 研究の方法

1) 肝虚血再灌流障害時におけるビタミンE誘導体 ETS-GS 投与の改善効果の検討

虚血再灌流障害前においてビタミンE誘導体の投与の有無による影響を解析する。

- ・血清中のAST,ALT値の測定
- ・血清中のNOx、サイトカイン量の測定をELISA Kit等を使用して解析する。
- ・肝組織中のROS測定を酸化ストレスマーカーを用いて検討する。

2) 正常肝組織ならびに虚血再灌流後の組織からのリン酸化アッセイ

正常肝組織並びに虚血再灌流後、さらにはビタミンE誘導体であるETS-GSを肝虚血再灌流後の組織においてリン酸化タンパク質抽出キット(バイオラッド社)を用いて抽出、精製する。その後、バイオラッド社製Bio-Plexを用いて網羅的に肝組織中のリン酸化タンパク質の変化を検討する。

3) 肝虚血再灌流障害後におけるビタミンE誘導体 ETS-GS 投与の改善効果の検討

虚血再灌流障害後においてビタミンE誘導体の投与の有無による影響を解析する。

- ・血清中のAST,ALT値の測定
- ・血清中のNOx、サイトカイン量の測定をELISA Kit等を使用して解析する。
- ・肝組織中のROS測定を酸化ストレスマーカーを用いて検討する

4. 研究成果

今回の研究でわれわれは新規抗酸化物質であるETS-GSの肝虚血再灌流傷害軽減効果を検討した。使用したラットはWistar系雄性ラットの全身麻酔下肝虚血再灌流傷害モデルであった。軽減効果はETS-GSによる強力な抗酸化作用効果が関連していることが解明され、血液学的にASTやALT、LDHなどのトランスアミナーゼ値の低下および顕微鏡的な組織形態維持として、肝保護効果を新たに確認することができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

山本俊介 (Yamamoto Shunsuke)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：70531747

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：