

## HMGB1 阻害作用を持つグリチルリチンは ラットにおける脳出血誘発障害を緩和する

大西正俊、香月博志\*、福富千温、高橋円香、  
本村美怜、福永瑞季、松岡康裕、磯濱洋一郎\*、  
泉 安彦\*\*、久米利明\*\*、井上敦子、赤池昭紀\*\*

*Neuropharmacology*, **61**, 975-980 (2011)

### **HMGB1 inhibitor glycyrrhizin attenuates intracerebral hemorrhage-induced injury in rats**

Masatoshi Ohnishi, Hiroshi Katsuki\*, Chiharu Fukutomi, Madoka Takahashi,  
Misato Motomura, Mizuki Fukunaga, Yasuhiro Matsuoka, Yoichiro Isohama\*,  
Yasuhiko Izumi\*\*, Toshiaki Kume\*\*, Atsuko Inoue, and Akinori Akaike\*\*

**ABSTRACT:** Thrombin activates immunocompetent microglia and increases release of inflammatory cytokines under intracerebral hemorrhage (ICH) insults. Also, thrombin injection into the striatum evokes acute necrosis and delayed apoptosis of neurons. A nucleoprotein high-mobility group box 1 (HMGB1) that is released from necrotic cells has been suggested to behave like a cytokine and cause over-facilitation of immune functions. Here we examined the effect of glycyrrhizin, known as an inhibitor of HMGB1, on thrombin-induced injury in rat cortico-striatal slice cultures and *in vivo* rat ICH model. In slice cultures, thrombin induced a drastic increase in propidium iodide fluorescence indicating necrotic cell death in the cortical region, and robust shrinkage of the striatal tissue. Glycyrrhizin (10 - 100  $\mu$ M) attenuated thrombin-induced cortical injury in a concentration-dependent manner. The protective effect of glycyrrhizin was not mediated by glucocorticoid receptors or modulation of nitric oxide production, but was reversed by exogenous HMGB1 application. The injury induced by a high concentration of HMGB1 was suppressed by glycyrrhizin. *In vivo*, unilateral injection of type IV collagenase into rat striatum induced ICH associated with brain edema formation, contralateral paralysis and neuron death. Once-daily intraperitoneal administration of glycyrrhizin attenuated ICH-induced edema in both the cortex and the basal ganglia, and improved behavioral performance of rats in forelimb placing. Moreover, glycyrrhizin partially but significantly ameliorated ICH-induced neuron loss inside hematoma. These findings suggest that an HMGB1 inhibitor glycyrrhizin is a potential candidate for a remedy for ICH.

**抄録** 脳出血に伴い漏出するトロンピンは血液凝固因子としての役割の一方、免疫担当細胞であるミクログリアを活性化し、炎症性サイトカインの遊離量を上げる。また、

線条体内へのトロンビンの微量投与は、直後のネクローシスと遅延性のアポトーシスを導く。ネクローシス性死細胞からは核タンパクの HMGB(high-mobility group box)1 が放出され、これは免疫機能の過剰亢進を引き起こすサイトカイン様に振る舞う。一方で、甘草由来成分であるグリチルリチンが HMGB1 に直接結合し、その活性を阻害することが知られている。そこで我々は、ラット大脳皮質 - 線条体切片におけるトロンビン誘発障害およびコラゲナーゼによる *in vivo* ラット脳出血モデルに対するグリチルリチンの作用を解析した。培養脳切片においてトロンビンは、PI(propidium iodide) 蛍光の上昇によって示される大脳皮質領域のネクローシス性細胞死および線条体組織の萎縮を惹起した。グリチルリチン (10-100  $\mu$ M) は、濃度依存的にトロンビンによる大脳皮質細胞の障害を抑制した。この保護効果は、糖質コルチコイド受容体や一酸化窒素産生量の調節によるものではなく、HMGB1 の適用によってリバースされた。高用量の HMGB1 による障害は、グリチルリチンによって抑制された。*In vivo* において、線条体内へのコラゲナーゼの微量投与は、出血に伴う脳浮腫、片側性の麻痺および神経細胞死を引き起こした。グリチルリチンの投与 (i.p.; 24 時間ごと) は、大脳皮質、基底核ともに浮腫を軽減し、行動学的症状を改善した。さらにグリチルリチンは、部分的ではあるものの血腫周辺部における神経細胞の減少を有意に抑制した。これらの知見は、HMGB1 活性を阻害するグリチルリチンが脳出血治療の候補物質となりうることを示唆するものである。

\* Department of Chemic-Pharmacological Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University

熊本大学大学院生命科学研究部薬物活性学分野

\*\* Department of Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University

京都大学大学院薬学研究科薬品作用解析学分野