日消外会誌　33（4）：564，2000年

研究速報

肝虚血―再灌流後のNF-κB活性の変動

丸林　誠二　　岡田　和郎　　福馬　寿幸　　大城　良雄
田代　裕尊　　片山　幸治　　浅原　利正　　土肥　雪彦

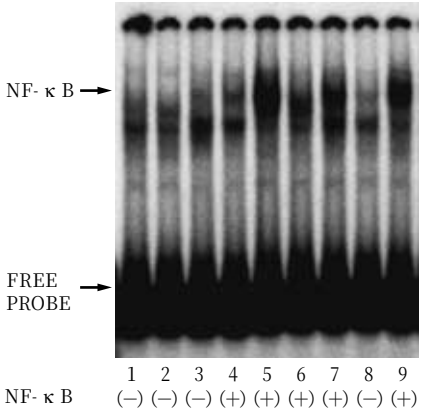
緒言：著者らはこれまでの研究により，肝虚血―再灌流による細胞障害は血流再開早期に恐らくKupffer細胞が活性化され，Tumor necrosis factor-α（TNF-α）をはじめとしたサイトカインが放出され，血管内皮の接着分子の発現，好中球の集積により肝細胞障害が生じることを報告してきた[1)2)]．また，エンドトキシン肝障害モデルでは，Kupffer細胞の転写因子であるNuclear factor κB（NF-κB）の活性化が関与するという知見を得ることができた[3)]．今回は肝虚血―再灌流後のNF-κB活性の変動について調べた．

実験材料および方法：体重200～250gのWistar系雄ラットを用い，エーテル麻酔下に動脈クリップを用いて，正中，左葉の肝動脈，門脈を完全遮断し，70%部分肝虚血モデルを作製した[2)]．肝組織よりのNF-κB活性は凍結肝臓より，核蛋白抽出を行い，ゲルシフトアッセイ法で測定した[3)]．

結果：本実験条件下の虚血肝のcritical timeである肝虚血90分後のNF-κB活性を調べた．**Fig. 1**に示すごとく，血流再開30分後よりNF-κB活性の増加が認められ，この増加は1時間後をピークとして4時間後まで持続した．また，50倍量の非標識プローブとの競合阻害によりNF-κBと^{32}P標識プローブとの複合体のバンドは消失したが（lane 8），非標識変異配列のプローブとの阻害ではこのバンドは影響されなかった（lane 9）．この結果より使用したプローブがNF-κBに対して特異的に結合することが判明した．

考察：NF-κBは，免疫グロブリンκ鎖遺伝子のエンハンサーに結合する核蛋白質として同定され，初期にはB細胞特異的転写因子として考えられていた．しかしその後，主として間葉系の各種細胞にも分布することが明らかになった．NF-κBは，通常は不活性因子IκBと複合体を形成して細胞内に存在し，各種刺激によりIκB kinaseが活性化され，IκBのリン酸化・分解が起こると核へ移行し活性型となる．NF-κBにより誘導される遺伝子は，免疫グロブリン以外にIL-1, IL-2, IL-6, IL-8, GM-CSF, TNFなどのサイトカイン，接着分子（ICAM-1など），NO合成酵素合成など炎症反応に深くかかわっているものが多い．肝虚血―再灌流障害にはKupffer細胞の活性化によるTNF-αが重要な働きをするとの報告も多く見受けられる．Fig. 1に示すごとく，NF-κBの活性化に伴い，TNFmRNAが誘導されるとすれば，血中に増加したTNFは血管内皮のICAM-1の発現を促進し，さらにCXCケモカイン（IL-8, cytokine-inducible neutrophil chemotactic factor（CINC）など）の産生を促進し，これに伴い好中球の集積，血管外漏出の増加により，肝細胞障害，ひいては臓器不全が生ずると考えられる．そのため，NF-κB活性を調節，制御することは肝虚血―再灌流障害を防止するための新しい治療戦略となる可能性が期待される．

Fig. 1　Electrophoretic mobility shift analysis of NF-κB binding activity.
Lane 1, shows control；Lane 2, non-ischemic control；Lane 3, 90 min of hepatic ischemia；Lane 4, 30 min of reperfusion following 90 min of hepatic ischemia；Lane5, 1hour of reperfusion；Lane 6, 2hours of reperfusion；Lane 7, 4 hours of reperfusion；Lane 8, unlabeled NF-κB and Lane 9, modified NF-κB probe.



Key word：NF-κB

文献：1）Marubayashi S, Dohi K：Therapeutic modulation of free radical-mediated reperfusion injury of the liver and its surgical implications. Surg Today **26**：573―580, 1996　2）Marubayashi S, Oshiro Y, Maeda T et al：Protective effect of monoclonal antibodies to adhesion molecules on rat liver ischemia-reperfusion injury. Surgery **122**：45―52, 1997　3）Fukuma K, Marubayashi S, Okada K et al：Effect of lazaroid U-74389G and methylprendoisolone on endotoxin-induced shock in mice. Surgery **125**：421―430, 1999

NF-κB Activity during Hepatic Ischemia and Subsequent Reperfusion. Seiji Marubayashi, Kazurou Okada, Kazuyuki Fukuma, Yoshio Oshiro, Hirotaka Tashiro, Koji Katayama, Toshimasa Asahara and Kiyohiko Dohi*. Department of Surgery II, Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima Prefectural Hospital*
＜2000年2月23日受理＞別刷請求先：丸林　誠二　〒734-8551　広島市南区霞1―2―3　広島大学医学部第2外科