

研究速報

肝阻血再灌流障害に対する ischemic preconditioning
による NF-κB の活性化抑制

舟木 洋 清水 康一 津山 博 二宮 致
伏田 幸夫 谷 卓 三輪 晃一 原田 真市*

緒言：肝阻血再灌流障害は肝移植，肝切除時に不可避であり，その障害抑制は肝臓外科の安全性に寄与すると考えられる。

阻血に先行する短時間の阻血再灌流は臓器保護効果を誘導し ischemic preconditioning (IPC) とよばれているが，その障害耐性獲得機序は明らかではない¹⁾。肝阻血再灌流障害では再灌流後早期に転写因子 nuclear factor-κB (NF-κB) が活性化され，TNF-α などの炎症性サイトカインが産生されると考えられている²⁾。そこで本実験では，IPC による NF-κB の活性化抑制について検討した。

実験材料および方法：体重30gの雄性マウス (Sic/ddY) を用い，門脈遮断による腸管鬱血回避のため脾臓皮下移植による門脈 体循環シャント作製後，阻血実験に供した。実験群は，IPC-0：70分全肝阻血，IPC-15：15分全肝阻血20分再灌流後70分全肝阻血に分け，それぞれ再灌流後4時間，および sham として阻血を加えず肝組織を採取凍結した。各実験群は2回施行し，NF-κB 活性は凍結肝組織より核蛋白抽出し，electrophoretic mobility shift assay で測定した。

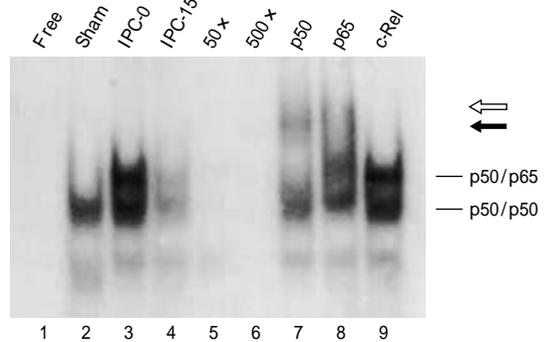
結果：Fig. 1に示すように，IPC-0の NF-κB 活性は sham に比べて増強したが，IPC-15では IPC-0と比べて抑制された。また IPC-0のバンドは50倍，500倍量の非標識プローブとの競合阻害により消失し (competition assay) ，さらに NF-κB のサブユニットである p50 p65 μ-Rel に対する抗体を用いた supershift assay では p50/p50 p50/p65のシフトが認められたが c-Rel はほとんど認められなかった。この結果より，使用したプローブが NF-κB と特異的に結合することが示された。

考察：肝阻血再灌流障害の制御には様々なアプローチがなされてきた。従来より再灌流で発生する活性酸素種が重要視され，その消去や産生抑制が検討されてきた²⁾。最近ではサイトカインの関与が注目されその産生源であるクッパー細胞の活性化抑制やサイトカインの機能発現抑制などが試みられている³⁾。

肝阻血再灌流後早期 (直後より数時間まで) に転写因子 NF-κB が活性化され，TNF-α ，IL-1 ，ICAM-1などが誘導されることで好中球による組織障害が進展すると考えられている²⁾。IPC は前述した外因性の障害制御と異なり，内因性に障害耐性を獲得すると考えられるがそのメカニズムは明らかではない¹⁾。本実験によ

Fig. 1 Electrophoretic mobility shift assays for NF-κB activation.

Lane 1, free nuclear extracts (NE); Lane 2, NE from sham control mouse ; Lane 3, 4 hours of reperfusion following 70 min of total hepatic ischemia (IPC-0); Lane 4, ischemic preconditioning of 15 min of ischemia and 20 min of reperfusion before IPC-0 (IPC-15); Lanes 5 and 6, competition of IPC-0 liver NE by 50 x and 500 x molar excess of cold NF-κB oligo ; Lanes 7 - 9, supershift assays of IPC-0 liver NE using antibodies against p50, p65, and c-Rel. Supershifts of p50 and p65 were indicated by closed arrow and open arrow, respectively.



り IPC による NF-κB の活性化抑制が示された。IPC を加えることで NF-κB を活性化するシグナル伝達を制御する内因性因子の存在が示唆される。その内因性因子の解明は肝阻血再灌流障害軽減の新たな治療戦略となりうる。

Key word : ischemic preconditioning

文献：1) Tsuyama H, Shimizu K, Yoshimoto K, et al : Protective effect of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in mice. *Transplant Proc* 32 : 2310 2313, 2000 2) Fan C, Zwacka RM, Engelhardt JF : Therapeutic approaches for ischemia/ reperfusion injury in the liver. *J Mol Med* 77 : 577 592, 1999

Ischemic Preconditioning for Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury Reduces NF-κB Activation.

Hiroshi Funaki, Koichi Shimizu, Hiroshi Tsuyama, Itasu Ninomiya, Sachio Fushida, Takashi Tani, Koichi Miwa and Shin-ichi Harada*. Department of Surgery II, Kanazawa University, School of Medicine, *Center for Biomedical Research and Education, Kanazawa University, School of Medicine

< 2001年5月23日受理 > 別刷請求先：舟木 洋 〒920 8640 金沢市宝町13 1 金沢大学医学部第2外科