慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	JNK (c-Jun NH2 Terminal Kinase) and p38 during Ischemia Reperfusion Injury in the Small Intestine
Sub Title	小腸虚血再灌流障害におけるJNK (c-Jun NH2 Terminal kinase)とp38の意義
Author	村山, 剛也
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.1 (2007. 3) ,p.8-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070302-0008

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

JNK（c-Jun NH_2 Terminal Kinase）and p38 during Ischemia Reperfusion Injury in the Small Intestine

小腸虚血再灌流障害におけるJNK（c-Jun NH_2 Terminal kinase）とp38の意義

村　山　　剛　也

内容の要旨

術後敗血症、急性、慢性拒絶反応の潜在的要因となる虚血再灌流障害の制御は小腸移植の重要な課題である。MAPK（mitogen-activated protein kinase）の中で、特にJNK（c-Jun N- terminal kinase）、p38はストレス性MAPKとされ、様々な炎症性疾患で重要な役割を担う。本研究では小腸虚血再灌流障害におけるJNK、p38の病態生理学的意義の解明のため、JNK、p38の同時阻害剤LL-Z1640-2をラット生体内で用いて検討した。

Wistar系雄性ラットをLL-Z1640-2（20mg/kg）投与群（LL-Z群）、投与しない群（Control群）の２群にわけ、上腸間膜動脈を30分間クランプして、虚血前、30分虚血後、再灌流後30分、再灌流後60分で小腸組織を採取し、以下の点を検討した。①組織障害度（H.E.（hematoxylin-eosin）染色）、②JNK、p38の活性化（Kinase assay）、③JNK、p38活性化の局在（免疫組織染色）、④アポトーシスの局在（TUNEL（the terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling）染色）。

H.E.染色において、Control群で再灌流後、障害は急激に中央値grade３～４まで進行した。LL-Z群では組織障害は統計学的に有意に改善した。Kinase assayで、JNKはControl群で虚血前の約８倍まで活性化し、LL-Z群では統計学的に有意に抑制（約40%）された。p38はControl群で虚血前の約２倍まで活性化し、LL-Z群では統計学的に有意に抑制（約50%）された。活性化JNKと活性化p38の免疫組織染色、TUNEL染色において、Control群では再灌流後、絨毛の先端の粘膜細胞に多数の陽性細胞が出現し、局在が一致した。LL-Z群では、Control群と比較して著明に少数であった。

MAPKスーパーファミリーの様々なクロストーク経路の存在は、JNKとp38両者の同時阻害の重要性を支える根拠の一つである。本研究で、小腸虚血再灌流障害モデルで、LL-Z1640-2はJNKとp38の両者の活性化を阻害し、アポトーシスを軽減し、組織障害を有意に改善させた。これにより、JNKとp38の同時阻害が小腸虚血再灌流障害の回避において重要であることが証明され、臨床の小腸移植グラフト虚血再灌流障害において、JNKとp38の同時阻害が組織障害を軽減するに有効であることが示唆された。

論文審査の要旨

虚血再灌流障害の制御は小腸移植の重要な課題である。本研究では小腸虚血再灌流障害において、JNK、p38の同時阻害剤LL-Z1640-2を生体内で用いて、①組織障害度、②JNK、p38の活性化の程度、③JNK、p38活性化の局在、④アポトーシスの局在を検討し、JNKとp38の同時阻害が小腸虚血再灌流障害の回避に重要であることが証明された。

審査では、まず使用したLL-Z1640-2について討議があった。生体内の使用報告がない薬剤で血中濃度などを検討する必要性の指摘、LL-Z1640-2のdoseの決め方、作用機序、下流のプロセス（細胞死までの過程）、中長期での影響について質問があった。以下のように予備実験の結果が報告された。血中濃度（静脈投与と経腹膜投与で.）を調べたが、代謝が非常に早く静脈投与では数分で急速に血中から消失した。投与量は各種dose、タイミングで投与モデルを作り、H.E.染色による組織障害が最も効果的なものを選択した。作用機序は、ひとつ上流のMAPKKの段階でリン酸化をとめているようであり、細胞死までの過程については、JNK、p38からapoptosisの間のメディエーターは今回検討していないが、直接的経路で細胞死を惹起したり、サイトカイン産生からの間接的経路も文献上報告がある。また、下流プロセスと関連して、この障害モデルでのapoptosisとnecrosisの比率が話題となった。Ikedaらの報告では、80%以上がapoptosisであった。中長期の影響について、死亡率を検討したが、投与群、非投与群間に差はなかった。しかしながら、検体採取はしてないため組織や活性化などについてのデータはないと回答された。さらに、LL-Z1640-2は前投与した場合に、base lineの活性化に対しては何故効果がないのか指摘があったが、具体的回答は困難であった。本剤の今後の臨床応用と方法も質問された。しかし、副作用の問題がまだ不透明であり、臨床応用には時間がかかると回答された。

また、以下の３つの指摘があった。今回はJNKとp38の両方の抑制だが、JNK単独抑制、p38単独抑制との効果の比較をした方がよい。本研究では、再灌流後の活性化が目立っており、文献では虚血だけでもJNK、p38は活性化される報告がある。Villiの中程のJNK、p38活性化は、stem cellの位置とも異なり、腸上皮細胞の分化とvilli先端への運動の反映と考えられる。

この他、統計処理や図表に関する説明の不備が指摘されたが、本研究は小腸虚血再灌流障害ではじめてJNKとp38の同時阻害の重要性を解き明かした点で有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　外科学　北島　政樹
内科学　日比　紀文　　医化学　末松　　誠
病理学　岡田　保典
学力確認担当者：池田　康夫
審査委員長：日比　紀文

試問日：平成18年11月７日