

Title	Inhibition of c-Jun NH2-Terminal Kinase Activity Improves Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Lungs.
Sub Title	c-Jun NH2-Termina kinaseの抑制はラット肺の虚血再灌流傷害を改善する
Author	石井, 誠(Ishii, Makoto)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.40-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0040

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.

Inhibition of c-Jun NH₂-Terminal Kinase Activity Improves Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Lungs.

(c-Jun NH₂-terminal kinaseの抑制はラット肺の虚血再灌流傷害を改善する)

石 井 誠

内容の要旨

【背景】虚血再灌流肺傷害は、肺移植後の早期死亡の主因とされているため、その発生機序を解明し有効な治療手段を確立することは肺移植後の生存率向上に不可欠である。近年MAPキナーゼ(MPAK)の1種であるJNKが様々な臓器の移植後の虚血再灌流傷害に関与していると報告されている。しかし、肺移植における虚血再灌流傷害でのJNKの病態形成に対する意義は不明である。そこで本研究では、ラット虚血再灌流肺におけるJNK関連シグナル伝達経路の役割を中心に検討した。

【材料・方法】ラット虚血再灌流肺モデルは、Euro-Collins (EC) 液にて肺を灌流し心肺をブロックとして摘出し4時間4℃にてEC液にて保存後、37℃にて3時間再灌流を行い作成した。保存液および再灌流液中にdimethylsulfoxide (DMSO) を投与した群 (対照群)、保存液および再灌流液中にJNKの特異的阻害薬であるSP600125を投与した群 (SP-IR群)、保存液中のみにSP600125を投与した群 (SP-I群) に分けた。各群において、各リン酸化MAPKの発現と各MAPK活性を各々ウェスタンブロット法およびキナーゼアッセイ法により経時的に検討した。またAP-1およびNF-κBのDNA結合能をゲルシフトアッセイ法にて、さらにNF-κBの抑制蛋白であるIκB-αをウェスタンブロット法にて検討した。再灌流3時間における肺胞洗浄液 (BAL) 液中の蛋白量 (BCA法)、LDH、TNF-α (ELISA法) の測定、病理組織学的検討、アポトーシスの検討を行った。また再灌流30分における対照群でのリン酸化JNK (p-JNK) の発現の局在を、免疫組織染色にて検討した。

【結果】対象群のJNK活性は虚血中と再灌流中に2峰性に上昇し、AP-1のDNA結合能もJNK活性と同様の経時的変化を示した。p-JNKは気管支上皮細胞、肺胞上皮細胞、肺胞マクロファージ、気管支および血管平滑筋などに発現していた。またNF-κBのDNA結合能はAP-1と異なり虚血中には変化なく、再灌流時に上昇した。そしてSP600125を保存液および再灌流液中へ投与したSP-IR群は対象群に比べ、JNK活性およびAP-1は抑制され、肺胞洗浄液中の蛋白、LDH、TNF-αは減少し、肺損傷は病理組織上改善し、アポトーシスは抑制された。NF-κB、IκB-α、p38、ERKには明らかな変化は認めなかった。一方、SP600125を保存液中のみに投与したSP-I群はBAL中の上記諸物質はSP-IR群と異なり減少しなかった。

【結論】JNKは虚血再灌流肺傷害において中心的役割を果たすと考えられた。さらに、肺移植などの虚血再灌流傷害に対してJNK活性の抑制が、有効な治療手段となりうる事が示唆された。

論文審査の要旨

肺移植は本邦では1997年に臓器移植法案が施行されて以降徐々に増加傾向にあるが、移植後早期死亡の主因として虚血再灌流傷害は重要な課題であり、その分子生物学的機序を解明し有効な治療手段を講じることができれば肺移植後の生存率を向上させることが可能となる。本研究では虚血再灌流においてJNKおよびAP-1活性の亢進を介して肺組織傷害が誘導され、この現象はJNK阻害薬の投与により著明に抑制されることを明らかにした。以上よりJNKは虚血再灌流肺傷害において重要な役割を果たし、肺移植などの虚血再灌流傷害に対してJNK阻害薬は有効な治療手段となり得ることが示唆された。

審査では、虚血再灌流中の気道圧やガス交換方法に関して質問がなされた。これに対し、心肺摘出時に主気管支を吸気終末位で結紮した後は再灌流終了時まで結紮を緩めており、また再灌流時の酸素化は灌流液中に自己血を添加し (Hct 約10%)、模型人工肺に21% O₂ 含有ガスを流入させて行ったと回答された。次に、再灌流終了時の対照群における病理組織標本に関して、固定方法及び肺水腫と記載している点に関して質問がなされた。ホルマリン液は約10cmの高さからほぼ一定量を一定圧で主気管支より注入した後に主気管支を結紮し、心肺を24時間ホルマリン液の中に入れ固定したこと、それによる肺胞の拡張が組織標本では修飾されている可能性があることと回答されたが、主論文に具体的な組織の固定方法を記載すべきであったと助言された。また、アポトーシス陽性細胞の細胞種について質問されたが、肺胞上皮細胞が多くを占め、気道上皮細胞や血管内皮細胞にはごく少数のアポトーシス陽性細胞のみであったことと回答された。次に、NF-κBと異なり虚血中にJNKやAP-1が一過性に上昇する機序とその意義に関し質問がなされた。これに対して、再灌流後は主に活性酸素種によりNF-κBやJNK/AP-1が活性化されると推測されるが、冷保存 (虚血) 中のJNK/AP-1活性化の機序は別と考えられ今後の検討課題であると回答された。虚血中のみJNK阻害薬を投与した群では対象群で上昇した気管支肺胞洗浄液中の諸物質の減少は認めなかったことから、虚血中のJNK/AP-1上昇は組織傷害の点では再灌流時に比べて重要でなく、むしろ組織保護的に作用している可能性さえあると回答された。また、虚血中のJNK阻害薬の投与方法に関し質問されたが、これに対し冷保存前にドナーラットに対し経静脈的あるいは腹腔内にあらかじめJNK阻害薬を投与することも考えうるが、本研究では行っておらず今後の検討課題であると回答された。

以上のように本研究はさらに検討されるべき課題を残しているものの、虚血再灌流肺傷害に対するJNK阻害薬治療の可能性を示した点で、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 小川 聡
外科学 小林 紘一 医化学 末松 誠
病理学 岡田 保典
学力確認担当者: 北島 政樹、小林 紘一
審査委員長: 小林 紘一

試問日: 平成16年10月 8日