

平成 21 年 6 月 17 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591470
 研究課題名（和文） 新規 NF-κB 活性阻害剤（DHMEQ）の小腸虚血再灌流障害に対する治療効果
 研究課題名（英文） The novel NF-κB inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, prevents local intestinal ischemia/reperfusion injury in rats.
 研究代表者
 鈴木 友己（SUZUKI TOMOMI）
 北海道大学・大学院医学研究科・特任助教
 研究者番号：70374238

研究成果の概要：Nuclear factor-κB（NF-κB）は炎症惹起因子である敗血症、活性酸素などの刺激により腸管で活性化されることが知られている。この NF-κB の核内への移行を阻害する新規 NF-κB 活性阻害剤（DHMEQ）を用いたラット小腸虚血再灌流障害に対する NF-κB 阻害作用の効果について検討した。その結果、ラット 60 分小腸虚血再灌流障害モデルにおいて DHMEQ 治療群は無治療群と比較して、生存日数の有意な延長を認め、再灌流後の小腸組織血流量を良好に維持できた。また、DHMEQ 治療群は炎症性サイトカインである TNF-α と IL-6 の産生を有意に抑え、病理組織学的に小腸および遠隔臓器である肺障害をも軽減できた。翌年度は、これらの知見から潰瘍性大腸炎のモデルであるマウス DSS 誘発大腸炎モデルに対しても DHMEQ の治療効果が期待できると判断し、その有効性について検討した。結果、DHMEQ 治療群はコントロール群と比較して炎症性サイトカインである IL-8 を有意に抑制し、臨床症状である血便の改善を認めた。以上より、DHMEQ はラット小腸虚血再灌流障害およびマウス DSS 誘発大腸炎モデルに対して抗炎症効果を示したとの結論を得た。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：NF-κB, 小腸虚血再灌流障害, サイトカイン, 肺障害, 炎症性腸炎, 大腸炎

1. 研究開始当初の背景

Nuclear factor- κ B (NF- κ B) は炎症惹起因子である敗血症、活性酸素などの刺激により腸管で活性化されることが知られており、炎症反応に関わるサイトカイン、接着因子、ケモカイン、growth factor、や炎症誘導酵素である cyclooxygenase-2、NO 合成の誘導などに関わっている。当該研究は新規 NF- κ B 活性阻害剤 (DHMEQ) の小腸虚血再灌流障害モデルをはじめとした炎症性腸炎モデルに対する抗炎症効果を検討した。

2. 研究の目的

臨床における小腸の虚血再灌流障害は、未だに高い致死率の上腸間膜血栓症や絞扼性イレウス、移植手術、拡大手術、外傷、熱傷、急性膵炎、出血性ショックなどにおいて認められ、小腸障害のみでなく、主要臓器である肺、肝、腎などの遠隔臓器障害、すなわち多臓器不全を引き起こすことが知られている。また、潰瘍性大腸炎とクローン病に代表される炎症性腸疾患は、若年から青年層に好発し、再燃と増悪を繰り返す難病で、厚労省より難治性疾患克服研究の対象として指定された慢性疾患であり、その病因の詳細はいまだ不明である。本実験では、NF- κ B の核内への移行を阻害する DHMEQ を用いたラット小腸虚血再灌流障害をはじめとした炎症性腸炎モデルを通じて、その治療効果を検討した。

3. 研究の方法

ラット小腸虚血再灌流障害

体重 250~300 g の雄性ラットを用いた 60 分の小腸虚血再灌流モデルを作成した。実験群はコントロールを無治療群とし、治療群は血流遮断 1 時間前と再灌流 5 分前に DHMEQ (10mg/kg) を腹腔内投与した。動物生存日数とレーザードプラー血流量計による小腸組織血流量、血清 TNF- α と IL-6 の測定および小腸と遠隔臓器である肺障害の程度について病理組織学的に検討した。

マウス DSS 誘発大腸炎

In vitro: HT29 株を LPS で刺激し IL-8 を ELISA 法で測定、DHMEQ を添加し IL-8 産生抑制効果を検討した。In vivo: C57/BL/6 マウスに 2 または 3% の DSS を飲水させて大腸炎を誘発した。無治療群をコントロール群、治療群は DHMEQ (20mg/kg) を連日腹腔内投与、また対象治療群として 5-ASA (100mg/kg) を連日直腸内投与し、大腸炎抑制効果を検討した。

4. 研究成果

ラット小腸虚血再灌流障害

ラットの 60 分小腸虚血再灌流障害モデルにおいて DHMEQ 治療群は無治療群と比較して、生存日数の有意な延長を認め、再灌流後の小腸組織血流量を良好に維持できた。また、DHMEQ 治療群は炎症性サイトカインである TNF- α と IL-6 の産生を有意に抑え、病理組織学的に小腸および遠隔臓器である肺障害をも軽減できた。

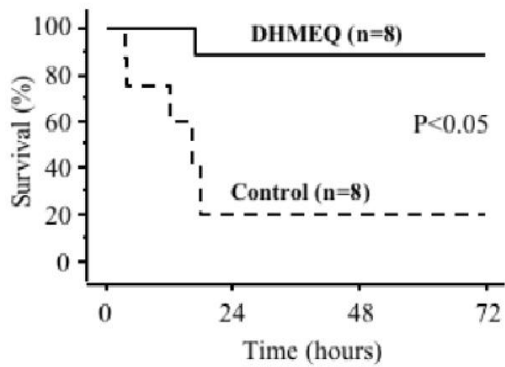


図 1. 治療群は無治療群と比較して有意な生存日数の延長を認めた。

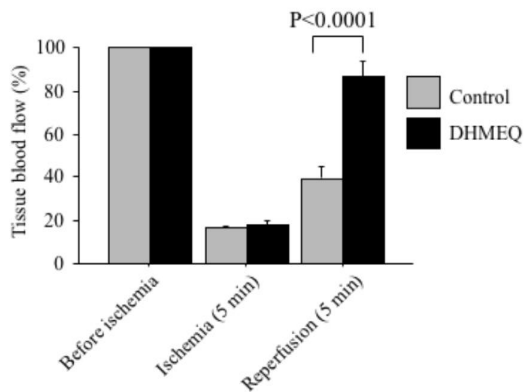


図 2. 治療群は無治療群と比較して再灌流後の小腸組織血流量を良好に維持できた。

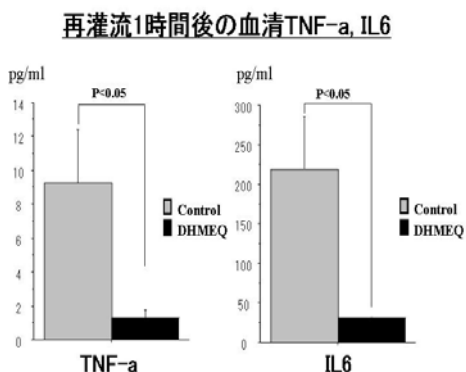


図 3. 治療群は無治療群と比較して炎症性サイトカインである TNF- α と IL-6 の産生を有意に抑えた。

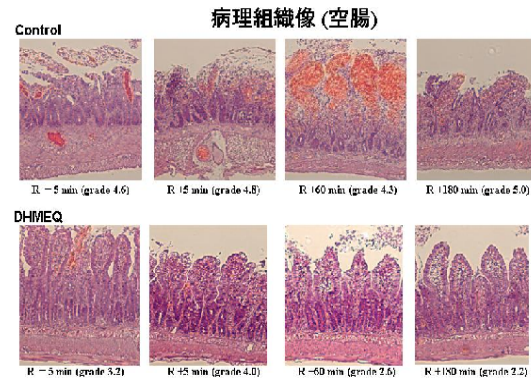


図 4. 無治療群 (上) は再灌流後に炎症細胞浸潤を伴う小腸粘膜の脱落を認めるが治療群 (下) は粘膜の構築が良好に保たれている。

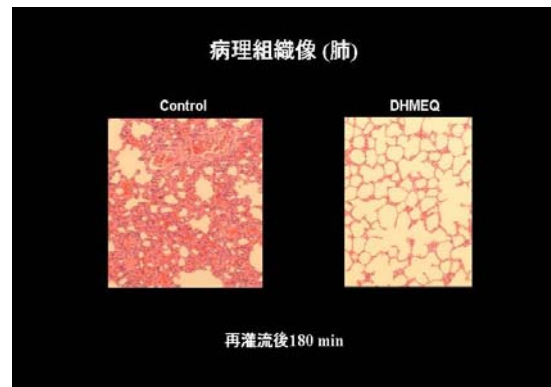


図 3. 無治療群 (左) は再灌流後 3 時間の肺組織において炎症性細胞浸潤を伴う間質の浮腫、出血を認めるが治療群はほぼ正常の肺組織像を呈している。

マウスDSS誘発大腸炎

DHMEQ は 2.5 μ g/ml 以上で IL-8 産生を有意に抑制した。コントロール群では、3% DSS 飲水 4 日目で 4/6 例、5 日目で全例が肉眼的血便を呈したが、DHMEQ 投与群のそれは 2/6 例であった。一方、5-ASA 投与群はコントロール群に対して改善を認めなかった。2% DSS モデルでも同様の傾向が認められた。



図 1. 無治療群（写真上）は粘膜が広範囲に脱落しているのに対して治療群（写真下）は粘膜構造が保たれ炎症性細胞浸潤は軽度である。

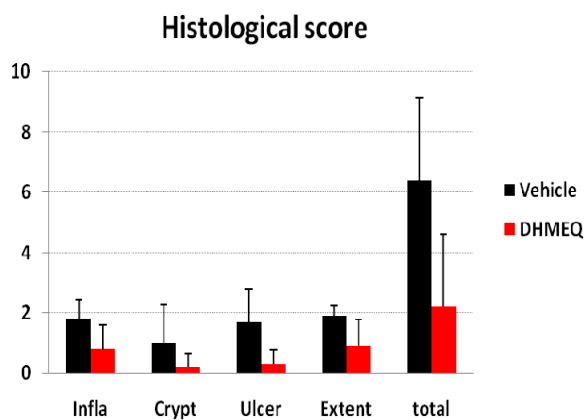


図 1. 大腸粘膜組織障害度の程度を細胞浸潤、潰瘍などの 4 項目で評価。治療群は無治療群と比較して有意に低い。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 1 件）

① Suzuki T, Yamashita K, Jomen W, Ueki S, Aoyagi T, Fukai M, Furukawa H, Umezawa K, Ozaki M, and Todo S. The novel NF- κ B inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, prevents local and organ injury following intestinal ischemia/reperfusion in rats. J Surg Res. 2008 Sep;149(1): 69-75 査読有

〔学会発表〕（計 1 件）

① Tomomi Suzuki The novel NF- κ B inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, prevents local and organ injury following intestinal ischemia/reperfusion in rats. The Transplantation Society 2008 Poster session 平成 20 年 8 月 11 日 Sydney (SYDNEY CONVENTION CENTRE)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 友己 (SUZUKI TOMOMI)

北海道大学・大学院医学研究科・特任助教

研究者番号：70374238

(2) 研究分担者

山下 健一郎 (YAMASITA KENNITIROU)

北海道大学・大学院医学研究科・特任助教

研究者番号：00399940

尾崎 倫孝 (OZAKI MICHITAKA)

北海道大学・大学院医学研究科・特任教授

研究者番号：80256510

(3)連携研究者

なし