

# 小腸虚血再灌流による多臓器トランスポータ発現変動機構の解明

板垣 史郎 [北海道大学大学院薬学研究院/助教]

## 背景・目的

小腸虚血再灌流(I/R)障害は腸閉塞・切除手術時などに生じる不可避の障害であり、肝臓・腎臓等の遠隔臓器にも障害を起こす。この障害の改善が臓器切除・移植後の患者の予後に大きな影響を与える。一方、臓器における物質の輸送には多くの薬物トランスポータが関与していること、トランスポータの発現変動が薬物の動態・薬効へ大きく影響することが明らかにされてきた。しかしながら、I/Rに起因する多臓器障害時のトランスポータの発現変動を検討した例はほとんどない。本研究では小腸 I/R 時の肝臓・腎臓・小腸のトランスポータの発現変動およびその機構を解明することを目的とする。

## 内容・方法

患部切除や臓器移植などの外科的手術時には出血を避けるため臓器への血流を遮断して手術を行い、その後臓器への血流を再開する。腸閉塞時などにも同様の現象が起こる。本研究では小腸 I/R モデルラットを作成し、小腸 I/R 障害時のトランスポータ発現変動に関する種々の検討を行った。大前らは小腸 I/R によって回腸の P-glycoprotein (P-gp) 発現量が増加することを報告している (Omae et al., *Biochem. Pharmacol.*, 69: 561-568, 2005)。そこで、本研究では、P-gp の属する ATP-binding cassette (ABC) トランスポータに着目した。第一に、Real-Time PCR およびウエスタンブロッティングによって、小腸 I/R によって発現が変動する肝臓・腎臓・小腸の ABC トランスポータを同定した。近年、炎症性サイトカインによる種々トランスポータの発現変動が報告されている。そこで、小腸 I/R に伴う炎症性サイトカイン、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 の放出量を測定し、トランスポータ発現変動との関係を検討した。

## 結果・成果

ラット小腸 I/R モデルの小腸における ABC トランスポータ mRNA 量を検討したところ、回腸の mdr1a および空腸の multidrug resistance associated-protein 2 (Mrp2) の mRNA が I/R 6h 後に有意に減少していた。mdr1a は 24h 後においても sham と比較して有意に減少していた。一方、回腸の breast cancer resistance protein (Bcrp) の mRNA は I/R 24h 後に有意に増加していた。続いて、mRNA に変動が見られたトランスポータのタンパク質発現量を検討した。その結果、mdr1a が有意に減少した I/R 6h 後の P-gp 発現量は減少していた。しかしながら、I/R 24h 後の P-gp 発現量は mdr1a が減少しているにも拘らず、sham と同等まで回復していた。Mrp2

タンパク質発現量は mRNA 量と同様に I/R 6h 後に減少していた。一方、Bcrp タンパク質発現量は I/R 1h 後という早い時間で著しく減少していた。その後、時間の経過とともに Bcrp タンパク質発現量は増加していき、I/R 24h 後には sham と同等、もしくは若干の増加を示した。Bcrp の mRNA は I/R 1h 後に変動が見られないことから、Bcrp 発現量は小腸 I/R により転写後調節を受けると考えられた。

小腸 I/R は小腸のみならず全身に影響を与え、多臓器不全を引き起こす。血清中炎症性サイトカイン濃度を測定したところ、I/R 6h 後の IL-6 濃度は著しく上昇していた。一方、小腸 I/R による血清中 TNF- $\alpha$  濃度の上昇は見られなかった。さらに、血清中 IL-1 $\beta$  濃度は sham 群、I/R 群ともに全ての時間で痕跡量しか検出されなかった。このことから、I/R 6h 後に全身で IL-6 の放出を伴う炎症反応が起こっていることが示された。

続いて、遠隔臓器における ABC トランスポータ発現量を検討した。遠隔臓器としては薬物動態学上重要である肝臓、腎臓に着目した。肝臓において I/R 6h 後に mdr1a が有意に減少し、mdr1b が有意に増加した。一方、腎臓においては I/R 24h 後に mdr1a は有意に減少したが、mdr1b は変動しなかった。また、Mrp2 mRNA は肝臓において I/R 6h 後に有意に減少したが、腎臓においては変動が見られなかった。小腸と同様、mRNA 量に変動が見られたトランスポータのタンパク質発現量を検討した。その結果、mdr1a の減少および mdr1b の増加が見られた肝臓の P-gp 発現量は sham と同等であった。このことから、I/R 6h 後の mdr1a の減少に対し、mdr1b が増加することで P-gp 発現量の変動を抑制していると考えられた。一方、腎臓における P-gp 発現量は I/R 24h 後に減少しており、mdr1a の変動と一致した。また、肝臓の Mrp2 発現量は mRNA 量と同様に I/R 6h 後に減少していた。このことから、肝臓の Mrp2 発現量は小腸 I/R により遺伝子の転写段階で影響を受け、mRNA 量の減少を介したタンパク質発現量の減少を起こすことが示された。また、IL-6 の放出による炎症反応が起こっている時期に Mrp2 発現量が減少していることから、この調節に IL-6 が関与していると考えられた。

1. Ogura, J., Kobayashi, M., **Itagaki, S.**, Hirano, T. and Iseki, K. Post-transcriptional regulation of breast cancer resistance protein after intestinal ischemia-reperfusion. *Biol. Pharm. Bull.* 31: 1032-1035 (2008).
2. Ogura, J., Kobayashi, M., **Itagaki, S.**, Hirano, T. and Iseki, K. Alteration of Mrp2 and P-gp expressions, including expression remote organs, after intestinal ischemia-reperfusion. *Life Sci.* 82: 1242-1248 (2008).

## 今後の展望

これまでの検討から、小腸 I/R 6h 後に肝臓の Mrp2 発現量が mRNA 量の減少を伴って減少することが示された。mRNA は有機アニオンや種々化合物のグルクロン

酸抱合体を基質とするため、小腸 I/R は Mrp2 に認識されるプラバスタチンなどの肝排出型有機アニオン系薬物、および代謝酵素によりグルクロン酸抱合を受ける薬物の体内動態に影響を与える可能性がある。また、Mrp2 の転写には核内受容体である FXR、PXR ならびに CAR が関与していることから、これらの核内受容体が小腸 I/R により何らかの影響を受けている可能性が考えられる。今後、これらの点を明らかにすることは、小腸 I/R を伴う疾患患者に対し、適切な薬物療法を施行するための一助となる。