

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およびウエスタンプロットティングによって、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- α 、IL-1 β 、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/R6h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/R24h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/R6h後のP-gp発現量は減少していた。しかしながら、I/R24h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/R6h後に減少していた。一方、Bcrpタンパク質発現量はI/R1h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く、I/R24h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/R1h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/R6h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- α 濃度の上昇は見られなかった。さらに、血清中IL-1 β 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つた。このことから、I/R6h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/R6h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/R24h後にmdr1aは有意に減少したが、mdr1bは変動しなかった。また、Mrp2mRNAは肝臓においてI/R6h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/R6h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/R24h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/R6h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/R6h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 に認識されるプラパ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。