

# 豊田 智美 論文内容の要旨

## 主 論 文

Milrinone-induced postconditioning reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats:  
the roles of phosphatidylinositol 3-kinase and nitric oxide.

ミルリノンによるポストコンディショニングは  
ラットの肝虚血再灌流障害を軽減する：PI3K と NO の役割

豊田智美、戸坂真也、戸坂玲子、前川拓治、趙成三、江口晋、中島正洋、澄川耕二

Journal of Surgical Research (in press)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻  
(主任指導教員： 原 哲也 教授)

## 緒 言

肝虚血再灌流障害(IRI)は、一時的な門脈遮断を伴う肝部分切除や肝移植における重要な問題であり、予後不良因子の一つである。IRI を軽減する戦略として長時間虚血に先行して短時間虚血または薬剤投与を行うプレコンディショニングがあるが、最近の研究で、長時間虚血後に短時間虚血または薬剤投与を行うポストコンディショニングが報告されている。ホスホジエステラーゼⅢ阻害薬であるミルリノンは、cAMP/PKA 活性化を介して肝 IRI に対するプレコンディショニング作用があると報告されているが、肝 IRI に対するポストコンディショニング作用は報告されていない。

本研究は肝 IRI に対するミルリノンの薬理的ポストコンディショニング作用を評価し、再灌流時のミルリノン投与タイミングと PI3K と NO の関与について検討した。

## 対象と方法

体重 320-430g の雄性ウィスターラットをペントバルビタール腹腔内投与で麻酔し、気管切開後に人工呼吸管理とし、右頸静脈に静脈ラインを確保した。正中切開で開腹して肝臓を露出させ、この時点でラットを 6 群に分けた。C、M、MW、MN、MD 群は肝左葉中葉への血流を遮断して 70% の部分肝虚血を 60 分間行った。Sham 手術をした S 群は肝血流遮断を行わなかった。M、MW、MN 群にはミルリノン (50  $\mu$ g/kg) を再灌流開始直後に単回投与した。MW または MN 群には PI3K 阻害薬: wortmannin (0.6mg/kg) または NOS 阻害薬: L-NAME (25mg/kg) をそれぞれミルリノン投与の 5 分前に投与した。MD 群にはミルリノンを再灌流開始 30 分後に単回投与した。再灌流 5 時間後に肝組織と血液を採取した。

肝機能は血清 AST、ALT、LDH で評価し、病理組織学的障害度は類洞うっ血、肝細胞空胞化、壊死の程度からなる Suzuki 分類を用いて評価し、肝組織のアポトーシス細胞数は TUNEL 染色で評価した。

## 結 果

血清 AST、ALT、LDH は S 群と比較して C、M、MW、MN、MD 群は有意に高く ( $P < 0.01$ )、C 群と比較して M 群は有意に低かった ( $P < 0.01$ )。PI3K 阻害薬と NOS 阻害薬はミルリノンによる肝保護作用を無効にし、再灌流 30 分後のミルリノン投与で肝保護作用は見られなかった。

Suzuki 分類による病理組織学的傷害スコアは C 群  $8.3 \pm 1.5$  で MW、MN、MD 群も同程度であった。M 群は  $3.0 \pm 1.2$  で C 群より軽度であった ( $P < 0.05$ )。

アポトーシス発生率は C、MW、MN 群で同程度あり、M 群では抑制されていた ( $P < 0.05$ )。MD 群は M 群より高かったが C 群より低かった。

## 考 察

ミルリノンは肝 IRI に対して、薬理的ポストコンディショニング作用を有し、その保護機序には PI3K と NOS の活性が関与している可能性が示唆された。ミルリノンを再灌流 30 分後に投与すると、血清検査上の肝機能障害と組織学的傷害は改善されなかったがアポトーシス発生は抑制された。

これまでに、ミルリノンには cAMP/PKA 活性化を経て肝 IRI に対するプレコンディショニング作用があると報告されている。肝の虚血プレコンディショニング・虚血ポストコンディショニングの機序は両者とも十分には解明されていないが、アデノシン、PI3K-Akt、NO など多くの類似点があることが報告されている。また、ミルリノンの心臓におけるポストコンディショニングの機序として、PKA/Akt 経路や NO 産生の関与が報告されている。今回の研究の結果から、ミルリノンは肝臓に対しても心臓と類似した機序によってポストコンディショニング作用を発揮することが明らかとなった。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。