

論 文 要 旨

Levosimendan pretreatment improves survival of septic rats after partial hepatectomy and suppresses iNOS induction in cytokine-stimulated hepatocytes

(レボシメンダンの前投薬は肝切除を伴う敗血症ラットの生存率を改善し初代培養肝細胞におけるサイトカイン刺激性 iNOS 誘導を抑制した)

関西医科大学外科学講座

(紹介: 友田 幸一学長・外科学講座講座主任事務取扱)

坂 口 達 馬

【背景】

レボシメンダンは欧州を中心に使用される心不全治療薬である。主な作用機序として、(1) 心筋トロポニン C のカルシウムに対する感受性増強、(2) 平滑筋細胞のミトコンドリア ATP 感受性カリウムチャネル開放が知られている。またレボシメンダンは心筋における抗炎症作用が報告され、強心作用と抗炎症作用とを併せ持つことから重症敗血症に対する治療薬として応用が期待されている。敗血症実験モデルでは心筋のほか、肺や腎の臓器保護効果が報告されている。これら臓器保護の作用機序については、一酸化窒素 (NO) の産生抑制が報告されているが、その詳細は不明とされる。また、敗血症治療の臨床試験で予後改善を示すに至っておらず、その詳細な適応、最適な投与方法は確立されていない。

一方、拡大肝切除の手術成績は近年の技術革新により改善しているが、敗血症を併発すると細網内皮系の機能不全等により重篤化する場合がある。我々は誘導性一酸化窒素合成酵素 (iNOS) 誘導経路を抑制することが重症敗血症病態における肝保護効果の指標となることを報告してきた。

【目的】

70%肝切除を伴う敗血症モデルラットにレボシメンダンを投与し、全身炎症性反応や肝障害の抑制作用により生存改善が得られるか検討した。さらにサイトカインで刺激した初代培養ラット肝細胞にレボシメンダンを投与することで作用機序について検討した。

【研究方法】

32匹の8週オス Sprague-Dawley ラット (体重 310 ± 10 g) に対し全身麻酔下に3 cm 以下の腹部正中切開を加えて開腹し、肝左外側葉と左中葉を結紮切除し閉腹した (70%肝切除)。手術直後、無作為にラットを4群 (各8匹) に分け2日間飼育した。手術47時間後にレボシメンダンを A 群 ; 2, B 群 ; 1, C 群 ;

0.5, D群; 0 (mg/kg BW) の用量に調製し各ラットに腹腔内注射した。手術48時間後にリポポリサッカライド (LPS) 250 µg/kg BW を陰茎静脈から注射した後、7日間観察した。また、探索的研究として同モデル20匹のラットからLPS注射後1時間と4時間に血液と肝切片を採取した。さらに門脈からコラゲナーゼを灌流させ分離・採取した肝細胞を初代培養し、interleukin (IL)-1β とレボシメンタンを添加し生化学的検討を行った。

【結果】

ラットの生存率は、A群63%、B群38%、C群13%、D群0%であり、A群では統計学的有意な改善効果が認められた。レボシメンタンは血清中のtumor necrosis factor (TNF)-α、IL-1β、IL-6等のサイトカイン値、またトランスアミナーゼ値を有意に低下させた。レボシメンタンは遺残肝組織中のiNOS、TNF-α、IL-1β、IL-6 mRNAの発現を有意に抑制した。IL-1βで刺激した初代培養肝細胞においてレボシメンタンはNO産生を用量・時間依存性に抑制し、トランスフェクションさせたiNOS遺伝子プロモーター (pRiNOS-Luc-SVpA、pRiNOS-Luc-3'UTR) 活性、iNOSアンチセンス転写物の発現を有意に抑制した。

【考察】

本研究ではレボシメンタン2 mg/kgを腹腔内投与することで、拡大肝切除を伴う重症敗血症モデルラットの生存改善が示された。肝障害条件下におけるレボシメンタンの全身性炎症反応の抑制作用が示され、iNOS遺伝子発現の抑制機序について新たな知見が得られた。iNOSの主な転写因子として知られるNF-κBに対する影響は今回明らかにされず、作用機序については更なる検討が必要である。また、病理組織学的には肝保護効果が示されず、今後、ガラクトサミン・LPS静注モデルなどで追加検討を予定する。今回、前投薬ボーラス法により生存効果が得られたが、肝臓外科領域の臨床応用に向けて、通常臨床で採用されている低用量持続静注法との比較検討を行う必要がある。