



Title	シクロオキシゲナーゼ - 2選択的阻害剤の抗炎症および腸管ポリープ発生抑制作用に関する薬理学的研究
Author(s)	脇谷, 之清
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43185
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	わき 脇	たに 谷	これ 之	きよ 清
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)			
学 位 記 番 号	第 1 6 4 1 5 号			
学 位 授 与 年 月 日	平成 13 年 5 月 7 日			
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当			
学 位 論 文 名	シクロオキシゲナーゼ 2 選択的阻害剤の抗炎症および腸管ポリープ 発生抑制作用に関する薬理学的研究			
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 馬 場 明 道			
	(副査) 教 授 八 木 清 仁 教 授 真 弓 忠 範 教 授 松 田 敏 夫			

論 文 内 容 の 要 旨

シクロオキシゲナーゼはアラキドン酸をプロスタグランジン (PG) H_2 に変換し、種々の PG 産生に関与する酵素である。すなわち、アラキドン酸に 2 分子の酸素を取り込んでエンドペルオキシドとヒドロペルオキシドを持つ PGG_2 を生じる脂肪酸シクロオキシゲナーゼ活性と、そのヒドロペルオキシドを還元して水酸基をもつ PGH_2 に変換する PG ヒドロペルオキシダーゼ活性の 2 つを併せもつ PG エンドペルオキシド合成酵素である。このような 2 つの触媒活性をもつ酵素全体を、前半の部分の名前でシクロオキシゲナーゼとして COX と略す。

アスピリンは約 100 年前にサリチル酸の誘導体として合成された化合物であるが、現在でも非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) の代表として使用されている。そのアスピリンの作用点は長い間不明であったが、1970 年代になって、アスピリンが COX を阻害することが明らかとなった。さらにその作用機序としてアスピリンが COX の特定セリン残基の水酸基をアセチル化することにより酵素活性を阻害することも判明し、COX が NSAIDs の作用点として注目されるようになった。1991 年 COX に誘導型のアイソザイムが発見され、従来知られていた酵素は COX-1 と呼ばれ、新しく発見された酵素は COX-2 と呼ばれるようになった。構成型の COX-1 は消化管、腎臓および血小板などで PG を産生し、その機能保持に関与していると考えられている。一方、COX-2 はマクロファージ、滑膜細胞、線維芽細胞などにおいてミトジェン、サイトカインおよび増殖因子などの刺激で発現し、炎症過程に密接に関与している。従来の NSAIDs は炎症部位での COX-2 を阻害し抗炎症作用を示すが、生理作用に必要な COX-1 も抑制するため消化管障害、腎機能障害および血小板機能低下という副作用を誘発する事が問題となっている。従って、炎症部位での COX-2 のみを阻害し COX-1 に影響をおよぼさない COX-2 選択的阻害剤が、副作用の少ない抗炎症薬として注目されるようになった。

本研究は、著者らが創製した COX-2 選択的阻害剤である JTE-522, 4-(4-cyclohexyl-2-methyl-1, 3-oxazol-5-yl)-2-fluorobenzenesulfonamide, の薬理学的特性を明らかにし、アジュバント関節炎モデルおよび腸管ポリープモデルに対する JTE-522 の作用を評価することで、それら病態発現における COX-2 の関与を検討したものである。

JTE-522 の COX-2 阻害剤としての活性をインビトロではインドメタシン、NS-398 および Celecoxib と、またインビボではインドメタシンと比較検討した。JTE-522 は COX-2 を強力に抑制し ($IC_{50}=0.085 \mu M$)、COX-1 活性に対して $100 \mu M$ まで無影響であったため、COX-2 に対する選択性は 1100 倍以上であると考えられる。この COX-2 阻害活性および選択性はインドメタシン、NS-398 および Celecoxib より優れていた。JTE-522 はプレインキュベーション

ン時間依存的に COX-2 を阻害し、その阻害作用はゲルろ過で影響を受けなかった。また、JTE-522 は COX-2 蛋白誘導に対して抑制作用を示さなかった。

インビボでは、JTE-522 はラットを用いたカラゲニン誘発足浮腫、酵母誘発痛覚過敏および体温上昇を用量依存的に抑制し (ED_{50} : 約 4 mg/kg, p. o.)、その活性はインドメタシンとほぼ同程度か若干弱いものであった。また、JTE-522 はカラゲニン足浮腫を抑制する用量で、炎症部位の COX-2 を介する PGE_2 産生量を抑制したが、COX-1 を介する血小板 TXB_2 産生量には影響を及ぼさなかった。さらに、絶食ラットに JTE-522 を経口投与した時の胃潰瘍を 50 % 発生させる用量 UD_{50} 値は 300 mg/kg 以上であり、胃粘膜の PGE_2 含量も 100 mg/kg まで有意な変化を示さなかった。これらの結果は JTE-522 がインビボでも炎症部位での COX-2 を選択的に抑制し抗炎症作用を示す事を示している。

ラットアジュバント関節炎モデルを用い JTE-522 の有効性および長期投与した時の胃潰瘍発症に対する作用を検討し、インドメタシンの作用と比較した。JTE-522 とインドメタシンは用量依存的に足浮腫の進展を抑制し、その ED_{50} 値はそれぞれ 1.8 および 0.13 mg/kg であった。JTE-522 とインドメタシンは足根関節部の骨破壊も抑制し、その ED_{50} 値はそれぞれ 1.0 および 0.33 mg/kg であった。足浮腫に対する有効用量と骨密度の低下に対する有効用量を比較すると、JTE-522 は骨破壊に対して低用量から有効であり、逆にインドメタシンは足浮腫に対して効果が高かった。この作用を説明するために JTE-522 のサイトカイン産生に及ぼす作用を検討した。JTE-522 はヒト末梢血由来単核球細胞およびマウスを LPS 刺激した時の $TNF\alpha$ 産生を抑制した。JTE-522 が骨破壊により有効であったのは COX-2 阻害活性以外に、骨破壊に関与している $TNF\alpha$ 産生を阻害する活性を併せ持っている事が影響していると推察された。投薬終了後、胃を摘出し潰瘍形成に対する作用を検討した。JTE-522 では骨破壊を抑制する 30 倍の用量 (30 mg/kg) でも潰瘍形成はまったく見られなかったが、インドメタシンでは有効量の 3 倍 (1 mg/kg) で 12 例中 4 例の胃潰瘍形成を認めた。以上の結果はアジュバント関節炎の足浮腫および骨病変の病態発現に COX-2 が重要な役割を果たしている事を示している。

次に、Apc 遺伝子欠損マウスを作製し、腸管ポリープの発生を検討すると共に、腸管ポリープ発生に及ぼす JTE-522 の抑制作用を検討した。Apc 欠損マウスでは挿入型ターゲティングベクターがマウス染色体上の Apc 遺伝子中に組み込まれて、エキソン 7~10 の重複/停止コドン形成により、正常 (2845) より短い (474) Apc 蛋白の産生が認められた。この変異マウスのヘテロ接合体は約 10 週齢で約 100 個の腸管ポリープを発生した。それに対して JTE-522 を生後 4 週より 8 週間、混餌投与しておくで腸管ポリープの形成は抑制された。この結果は Apc 欠損による腸管ポリープ形成に COX-2 が関与している事を示している。

本研究では新規化合物 JTE-522 の薬理的解析を行い、以下の結果を得た。JTE-522 はインビトロおよびインビボで COX-2 選択的阻害作用を示し、アジュバント関節炎による足浮腫および骨破壊、さらに Apc 遺伝子欠損による腸管ポリープの発生を抑制した。本成績は、関節炎および腸管ポリープの病態発現に COX-2 が関わっていることを示しており、COX-2 阻害剤の炎症領域以外への新しい臨床応用を示唆する。

論文審査の結果の要旨

本研究は、副作用の少ない抗炎症薬を開発する目的で申請者らにより見いだされた選択的シクロオキシナーゼ 2 (COX-2) 阻害剤、JTE-522 の薬理学的研究を行ったものである。まず JTE-522 の COX 阻害および抗炎症作用に関する薬理活性を非選択的阻害剤であるインドメタシンまたは他の COX-2 選択的阻害剤 (NS-398 および Celecoxib) と比較し、JTE-522 の薬理学的特性を明らかにした。次に、リウマチ性関節炎のモデルであるラットアジュバント関節炎モデルの足浮腫および骨病変に対する JTE-522 の効果、さらに、腸管ポリープ症のモデルである Adenomatous polyposis coli (Apc) 遺伝子欠損マウスを作製し、JTE-522 のポリープ発生抑制作用を評価することで、それら病態発現における COX-2 の関与を明らかにしたものである。以上の研究はその意義、内容の質において優れており、薬学博士 (大阪大学) の授与に値するものと判断する。