The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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

【4】

氏　　名	脇谷之清（わきたにこれきよ）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　16415　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産生に関与する律速酵素である。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マイトージェン、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（IC50＝0,085 μM）、COX-1活性に対して100 μM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4mg/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300mg/kg以上であり、胃粘膜のPGE_2含量も100mg/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0.13mg/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0.33mg/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TNFα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TNFα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（30mg/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（1mg/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、混餌投与しておくと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の薬理学的解析を行い、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出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。