

氏名	なかむらひろし 中村洋
学位(専攻分野)	博士 (医学)
学位記番号	医博第2167号
学位授与の日付	平成11年11月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Aminoguanidine has both an anti-inflammatory effect on an experimental colitis and a proliferative effect on colonic mucosal cells (アミノグアニジンの実験腸炎に対する抗炎症効果と大腸粘膜細胞における増殖効果に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 日合 弘 教授 千葉 勉 教授 清野 裕

論文内容の要旨

Nitric oxide (NO) は, Furchigott らによって内皮由来血管拡張物質として発見された。その作用は血管拡張作用だけにとどまらず, 神経伝達物質, 細胞免疫などにおいて重要な役割を果たしている。NO は NO 合成酵素 (NOs) によって合成されるが, NOs には常に存在する constitutive NOs (cNOs) と炎症等で惹起される inducible NOs (iNOs) がある。

cNOs は上皮細胞や神経細胞に存在し, 腸管の運動や電解質輸送血流などを調節している。iNOs は主に活性化した炎症細胞に存在し, 感染物質や腫瘍細胞に対する防御を調節している。

炎症性腸疾患患者の粘膜において NOs 活性とくに iNOs 活性が上昇していることから, NO が炎症性腸疾患に深く関わっていると考えられている。我々は, 様々な観点から実験を行った。

最初に実験的内視鏡により, NO とその関連物質におけるラット大腸粘膜に対する影響を検討したところ, NO と NO ドナーである L-arginine は粘膜下血管を速やかに拡張させた。しかし粘膜に対しての直接的な障害性は認めなかった。ところが NO と活性酸素が特殊な状況下で結合してできるペルオキシニトレートは強い粘膜傷害効果を持っていた。

大腸癌細胞株である T 84 に対する NO とその関連物質に対する影響を MTT 法を用いて検討したところ, NO ドナーである L-arginine は細胞増殖抑制効果を有していた。iNOs 拮抗剤であるアミノグアニジンは逆に増殖促進効果を示した。この細胞増殖促進効果は BrdU を用いた検討においても濃度依存性に認められた。

また Ussing 法を用いて NO の大腸粘膜における電解質輸送の検討を行ったところ, ラット及びヒト大腸粘膜でナトリウムイオンの吸収抑制作用と塩素イオンの分泌促進作用を確認した。しかし, T 84 細胞株を用いたところこれらの反応は認めなかった。これらのことから, NO は間接的に上皮細胞を刺激し, ナトリウムイオンの吸収抑制や塩素イオンの分泌促進を促し, 炎症性腸疾患の下痢症状には上昇した NO による分泌下痢が関与している可能性が考えられた。

そこで, 我々は実際に実験腸炎を作成して電解質輸送を検討したが, 炎症粘膜においては, 電解質輸送能力は低下し NO に対する作用も低下していた。このことから炎症粘膜においての分泌性下痢の可能性は少ないと考えられた。

次に, 実験腸炎に対する NOs 拮抗剤の効果を検討した。その結果, iNOs を優位に抑制するアミノグアニジンがもっとも強い改善効果を有していた。S-ethylisothiourea は粘膜傷害も改善したが, cNOs を優位に抑制する L-NAME では, 有意な改善効果は認めなかった。

ついで, アミノグアニジンの至適投与量を決めるため, 様々な量のアミノグアニジンを投与したところ, 1.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ でもっとも強い改善効果を認めた。0.15, 15 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ でも改善効果を認めたが, 150 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ では, 改善効果は消失していた。

これまでの検討は腸炎作成前より薬剤を投与しており, 実際の治療においてはすでにできあがっている腸炎に対する治療効果の有無が求められる。実験腸炎を作成後一週間から, もっとも強い効果を有していた 1.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ アミノグアニジンを

投与したところ有意な治療効果を認めた。

以上をまとめると

1. NO 単独では大腸粘膜に傷害作用は認めなかった。
2. NO は細胞増殖抑制効果が認められ、その拮抗剤であるアミノグアニジンに逆に細胞増殖促進効果を認めた。
3. NO はヒト及びラット大腸粘膜に対し、分泌性下痢を引き起こす可能性を認めたが、TNB 腸炎においての下痢は炎症による能動輸送能力の低下によると考えられた。
4. NOs 拮抗薬は実験大腸炎に対し粘膜傷害改善効果を認めた。特に iNOs 拮抗剤であるアミノグアニジンは、腸炎作成後に投与しても強い粘膜傷害改善効果を有し、細胞増殖促進効果を伴って、炎症性腸疾患治療薬として有望な薬剤であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

Nitric oxide (NO) は、内皮由来血管拡張物質として発見された。その作用は血管拡張作用だけにとどまらず、神経伝達系、免疫系において重要な役割を果たしている。炎症性腸疾患患者の粘膜において NOs 活性とくに iNOs 活性が上昇していることから、NO は炎症性腸疾患に深く関わっていると考えられている。申請者は、NO の抑制が腸炎改善につながると考え検討を加えた。まず、NOs 拮抗剤として抑制作用の異なる 3 種の NOs 拮抗剤 (L⁶-nitro-methyl-arginineester), S-エチルイソチオウリア (S-ethylthiouria), アミノグアニジン (aminoguanidine)) を用い、実験腸炎 3 日前より作成 6 日後まで投与した。その結果 iNOs 選択的拮抗剤であるアミノグアニジンが、実験腸炎の予防に最も有効であることが確認できた。しかし、アミノグアニジンを大量に投与すると抗炎症作用は消失することが認められ、これは NO 産生の過剰抑制によるものと考えられた。ついで、実験腸炎作成後に 1.5 μmol/kg/day アミノグアニジンを 6 日間投与したところ、肉眼的・顕微鏡的傷害スコア、潰瘍面積、MPO 活性の改善を認めた。また、BrdU を用いた細胞増殖の検討においてはアミノグアニジンは濃度依存性に細胞増殖促進作用を認めた。したがって、アミノグアニジンは抗炎症作用だけでなく、細胞増殖促進作用も有し、この両者が粘膜傷害の修復に働いていることが示された。これらのことから、iNOs 拮抗剤であるアミノグアニジンは、炎症性腸疾患の治療に有効である可能性が示された。

以上の研究は大腸炎の修復に NO 拮抗剤が有効であることを示し炎症性腸疾患の新しい治療の開拓に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 11 年 10 月 19 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。