

## NSAIDs 起因性小腸潰瘍に対する HSP70 の保護効果

熊本大学大学院薬学教育部分子機能薬学専攻創薬化学講座  
薬学微生物学分野 博士後期課程 3 年 浅野帝太

Indomethacin などの非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) は、解熱鎮痛抗炎症薬として世界中で広く用いられている。一方、その副作用である胃潰瘍 (NSAIDs 潰瘍) が臨床現場で大きな問題となっている (アメリカでの NSAIDs 潰瘍による死亡者数は年間 16500 人にもものぼる)。一方、NSAIDs による小腸潰瘍は、診断法 (検査法) が確立されていなかったためその実態が不明で、胃潰瘍に比べあまり注目されて来なかった。しかし近年、カプセル内視鏡やダブルバルーン内視鏡の開発により、小腸診断技術が改善され、NSAIDs が小腸にも潰瘍を引き起こすことが明らかとなった。そして最近相次いで発表された論文では、NSAIDs 常用者の約 7 割が小腸に潰瘍を引き起こしていることが分かってきた。胃潰瘍に関しては、酸分泌抑制薬 (プロトンポンプ阻害薬や  $H_2$  ブロッカーなど) により胃酸の分泌を抑制することが有効である。しかし、酸を分泌しない小腸ではこれらの医薬品は有効ではなく、NSAIDs 起因性小腸潰瘍の治療法は確立されていない。

小腸潰瘍の発症機構も十分には理解されていない。しかし最近の研究から、小腸でのプロスタグランジン量の低下だけでなく、NSAIDs が直接小腸粘膜細胞を傷害することや、小腸での炎症性サイトカインやケモカインを増加させることも、この病態に関与していることが示唆されている。そこで、細胞保護作用を持つ因子や、炎症性サイトカインやケモカインの合成を抑制する因子は、小腸潰瘍を抑制する可能性が考えられる。

Heat shock proteins (HSPs) は、様々なストレスにより誘導され、誘導された HSPs (特に HSP70) は細胞をストレスに耐性化することが知られている。最近、抗胃潰瘍薬である Geranylgeranylacetone (GGA) が、毒性を示さない濃度で HSP を誘導することが明らかになった。当研究室では、胃粘膜培養細胞を GGA で処理すると HSP70 が誘導され、同時に NSAIDs 依存のアポトーシスが抑制されることを報告した。これらの結果から私は、HSP70 が NSAIDs 起因性小腸潰瘍を抑制すること、及び GGA のような毒性のない HSP 誘導薬が NSAIDs 起因性小腸潰瘍治療薬として有用であるという仮説を考えた。

まず私は HSP70 が NSAIDs 依存の小腸潰瘍に対して保護的に働くのかについて検討した。具体的には、HSP70 過剰発現マウス、及びその野生型マウスに Indomethacin を経口投与し、小腸潰瘍の形成を比較した。その結果、HSP70 過剰発現マウスでは、野生型マウスに比べて Indomethacin 依存の小腸潰瘍が起こりにくいことを見出した。この結果は、NSAIDs 起因性小腸潰瘍を HSP70 が抑制することを示す初めての結果である。また、野生型マウスにおい

て Indomethacin 投与後の小腸粘膜における HSP70 の発現をイムノブロット法により検討した結果、Indomethacin 依存に小腸粘膜で HSP70 が誘導されていることを見出した。また、HSP70 過剰発現マウスでは、野生型マウスに比べて、Indomethacin 投与の有無に関わらず、より強く HSP70 が発現されていた。

上述のように NSAIDs 起因性小腸潰瘍の形成において、NSAIDs による細胞死(アポトーシス)誘導、小腸粘膜プロスタグランジン量の低下、炎症反応の亢進などが重要な役割を果たしていると考えられている。そこでまず私は、TUNEL 法を用いて、HSP70 過剰発現マウス、及び野生型マウスにおいて、Indomethacin 依存の小腸粘膜でのアポトーシス誘導を比較した。その結果、野生型マウスに比べて、HSP70 過剰発現マウスでは、小腸粘膜でのアポトーシス誘導が顕著に抑制されていた。一方、HSP70 過剰発現マウス、及び野生型マウスにおける、小腸粘膜でのプロスタグランジン量を ELISA 法により検討した結果、Indomethacin 投与の有無に関わらず、両者に差はなかった。以上の結果から、HSP70 は NSAIDs による小腸粘膜でのアポトーシス誘導を抑制することにより、NSAIDs 起因性小腸潰瘍を抑制していることが示唆された。

さらに、好中球浸潤(炎症反応)の指標である MPO 活性を測定した結果、野生型マウスでは Indomethacin 依存に MPO 活性が増加するが、HSP70 過剰発現マウスではこの上昇が有意に抑制されていることを見出した。また、この時の小腸における炎症性サイトカイン、及びケモカインの mRNA 発現を real-time RT-PCR 法を用いて調べた結果、野生型マウスでは Indomethacin 依存にインターロイキン(IL)  $-1\beta$ , IL-6, MIP-2(好中球に対するケモカイン)の発現が誘導されたが、この誘導が HSP70 過剰発現マウスでは抑制されていることを発見した。これらの結果から HSP70 は、アポトーシス誘導の抑制だけでなく、過剰な炎症反応の抑制(炎症性サイトカインやケモカインの発現抑制による)を介しても、NSAIDs 起因性小腸潰瘍を抑制していることが考えられる。

上述のように、臨床で広く用いられている抗潰瘍薬 GGA は、毒性のない HSP70 誘導剤としても知られている。私は GGA が HSP70 を誘導し、小腸潰瘍を抑制するのではないかと考え検討した。そして、GGA を前投与することで Indomethacin 依存の小腸潰瘍の形成が抑制されることを見出した。さらに、小腸粘膜における HSP70 の発現を調べたところ、Indomethacin 投与による HSP70 の誘導が、GGA を前投与することでさらに顕著になった。また、GGA 単独でも HSP70 誘導が見られた。さらに、HSP70 の阻害剤として知られる Quercetin を前投与すると、NSAIDs 起因性小腸潰瘍に対する GGA の抑制効果が見られなくなった。これらの結果から、GGA による小腸潰瘍抑制は HSP70 誘導を介していることが示唆された。

以上の結果から私は、GGA のような毒性のない HSP70 誘導剤は、NSAIDs 起因性小腸潰瘍に対する有効な治療薬になることを提唱したい。