

</

論 文 の 内 容 の 要 旨

（目的）

Indomethacin のような非ステロイド性鎮痛解熱剤は種々の疾患に使われており、胃潰瘍や急性胃粘膜傷害などの副作用が重要な問題点となっている。その発生機序として、この薬剤がアラキドン酸代謝に影響して、cyclooxygenase を阻害し prostaglandin 産生を抑制して胃粘膜防御を低下させること、優位となった lipoxygenase 系による leukotrien の産生増加、炎症細胞の活性化、活性酸素の産生を介して胃粘膜を脂質過酸化させることなどが関与すると考えられているが、不明の点も多い。非ステロイド性鎮痛解熱剤による胃粘膜傷害の最も有効な治療薬は胃酸分泌抑制剤であり、その機序として胃腔内塩酸量の減少や胃粘膜脂質過酸化の抑制などが報告されている。このことは、胃酸と胃粘膜脂質過酸化とが直接関連する可能性を示唆しているが、検討はほとんどされていない。本研究では、非ステロイド性鎮痛解熱剤による胃粘膜傷害における胃粘膜脂質過酸化と胃酸分泌との関係について検討した。

（対象と方法）

In vitro の実験ではラット正常胃粘膜由来培養細胞 RGM1 を、in vivo の実験では Wister 系雄性ラットを用いた。実験Ⅰでは、RGM1 細胞に対する Indomethacin 及び抗酸化剤である Rebamipide の影響について、実験Ⅱでは RGM1 細胞に対する酸環境の影響について in vitro で検討した。細胞傷害、脂質過酸化、ミトコンドリア膜電位、DNA 傷害、アポトーシスの項目について、種々の蛍光色素や免疫染色法等を用いて測定した。実験Ⅲでは、in vivo でラットに Indomethacin（10mg/kg）を投与後、胃粘膜の脂質過酸化や DNA 傷害の有無やプロトンポンプ発現の程度について免疫染色法を用いて経時的に観察した。また、これらの項目に対する Rebamipide や酸分泌抑制剤（Rafutidine, Famotidine, Rabeprazole）の影響についても検討した。

（結果）

実験Ⅰ：RGM1 を 1mM の Indomethacin とともに in vitro で培養すると、18 時間後には RGM1 細胞の傷害とともに、脂質過酸化、ミトコンドリア膜電位の低下、DNA 傷害、アポトーシスが認められた。こ

のアポトーシスは caspase 3/8/9 の活性化を介して生じていた。また、これらの Indomethacin の作用は Rebamipide により抑制された。

実験Ⅱ：RGM1 を pH1, 2, 3, 4, 7 の溶液とともに in vitro で培養すると、pH1, 2, 3, 4 の溶液では培養 15 分で RGM1 細胞の著明な傷害が認められた。また、pH13 の溶液での培養では、RGM1 細胞に脂質過酸化、ミトコンドリア膜電位の低下、DNA 傷害、アポトーシスが認められた。

実験Ⅲ：ラットに Indomethacin を投与すると、30 分後には胃粘膜固有層の深層部分に脂質過酸化や DNA 傷害が認められ、その変化は経時的に増加した。また、Indomethacin 投与により、脂質過酸化や DNA 傷害が認められたとほぼ同一部位でプロトンポンプ発現の経時的な増加が認められた。Indomethacin 投与による脂質過酸化や DNA 傷害は、Rafutidine, Famotidine, Rabepazole, Rebamipide により抑制された。

(考察)

本研究の結果から、Indomethacin および酸が直接胃粘膜培養細胞に対し酸化ストレスとして作用し、ミトコンドリア膜電位の低下、脂質過酸化、アポトーシス誘導を惹起させ胃粘膜細胞を傷害することが明らかになった。非ステロイド性鎮痛解熱剤によるミトコンドリア膜電位の低下やアポトーシスの誘導はこれまでも報告されていたが、本研究でもこれらが確認されるとともに、胃粘膜傷害の治療薬として用いられる Rebamipide でこれらが抑制されることが初めて明らかになった。また、酸により胃粘膜細胞にミトコンドリア膜電位の低下やアポトーシスが誘導され傷害されることも初めて明らかになった。

一方、in vivo での実験から、胃粘膜傷害の部位は胃粘膜固有層の深層部分であることやこの傷害がプロトンポンプ阻害剤等の胃酸分泌抑制剤や抗酸化剤で抑制されることが明らかになった。この胃粘膜深層にはプロトンポンプを有する壁細胞が多数存在し胃酸産生を行っているが、非ステロイド性鎮痛解熱剤の投与により胃粘膜傷害部位とほぼ同一部位でプロトンポンプの発現が増強していることが初めて明らかになった。非ステロイド性鎮痛解熱剤と胃酸分泌との関係については統一した見解が得られていないが、本研究で認められたプロトンポンプの発現増強と胃粘膜脂質過酸化との関連については興味ある知見と考えられ、今後さらに検討が必要である。

以上の結果から、非ステロイド性鎮痛解熱剤による胃粘膜傷害には、従来から考えられていた発生機序以外にも、この薬剤自身による胃粘膜細胞の脂質過酸化及びプロトンポンプに富む胃粘膜深層から分泌された胃酸による胃粘膜細胞の脂質過酸化が関与している可能性が示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、非ステロイド性鎮痛解熱剤による胃粘膜傷害の発生機序として、非ステロイド性鎮痛解熱剤及び胃酸分泌と胃粘膜脂質過酸化との関係について検討した。ラット正常胃粘膜由来培養細胞 RGM1 を用いた in vitro の実験により、非ステロイド性鎮痛解熱剤及び酸が直接 RGM1 細胞に酸化ストレスとして作用し細胞傷害を生じさせることを明らかにした。また、ラットを用いた in vivo の実験により、非ステロイド性鎮痛解熱剤が粘膜固有層の深層部に脂質過酸化や DNA 傷害を生じさせること、これとほぼ同部位でプロトンポンプの発現が増強すること、プロトンポンプ阻害剤などの胃酸分泌抑制剤や抗酸化剤により胃粘膜固有層の脂質過酸化が抑制されることを明らかにした。これらの結果から、非ステロイド性鎮痛解熱剤による胃粘膜傷害の発生には、この薬剤及び酸が直接胃粘膜の細胞に対し酸化ストレスとして作用することも関与していることを示した。

本研究により得られた知見は、非ステロイド性鎮痛解熱剤による胃粘膜傷害の発生機序として胃酸分泌と胃粘膜脂質過酸化との関係についての重要性を示しており、今後さらなる研究の発展が期待される。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。