

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
村野 直子	主査 教授 勝 健 一 副査 教授 谷 川 允 彦 副査 教授 花 房 俊 昭 副査 教授 森 浩 志 副査 教授 玉 井 浩
主論文題名 Therapeutic Effect of SHI-219, A Novel Water Soluble Prodrug of EG626(Phthalazinol), on Mouse Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis (マウス DSS 誘発腸炎における SHI-219(可溶性 EG626)の病変抑制効果)	
学位論文内容の要旨	
<p>[目的]</p> <p>炎症性腸疾患(潰瘍性大腸炎, クロウン病)患者において, 各種炎症性サイトカイン(IL-1β, TNF-α, IL-6, IL-8)や炎症性メディエーター(LTB4, TXB2, PGE2)は大腸粘膜の病変形成に深く関与している。</p> <p>EG626(Phthalazinol)は動脈や血小板において cyclic AMP phosphodiesterase や TXA2 などの Eicosanoids を阻害し, 抗炎症作用を有することが知られている。</p> <p>今回, 申請者は炎症性腸疾患の新しい治療法を検討する目的で, マウスに潰瘍性大腸炎の類似モデルである dextran sodium sulfate-induced colitis (以下 DSS 腸炎)を作成し, EG626 の可溶性プロドラッグである SHI-219 の腹腔内投与による大腸病変抑制効果に関して検討した。</p> <p>[対象と方法]</p> <p>6 週齢の BALB/c 系雌性マウス(体重約 20g)を 20 匹用い, Normal 群(n=5), Control 群(5% DSS 溶液自由飲水, 蒸留水 0.3ml 腹腔内投与:7 日間, n=5), SHI-219(2mg/mice)群(5%DSS 溶液自由飲水, SHI-219 2mg+蒸留水 0.3ml 腹腔内投与:7 日間, n=5), SHI-219(0.5mg/mice)群(5%DSS 溶液自由飲水, SHI-219 0.5mg+蒸留水 0.3ml 腹腔内投与:7 日間, n=5)の 4 群に分けた。</p> <p>各群を DSS 投与開始 7 日目に麻酔下で屠殺し, 以下の項目で評価した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. WBC 値・Hb 値・腸管長・Disease Activity Index(DAI)・Histological damage score(HDS) 貧血評価のために血色素濃度を測定した。また, 体重減少率, 屠殺時の便性状, 血便の状態を DAI として点数化した。組織学的検討には摘出した直腸の HE 標本を用い, 炎症細胞浸潤, および crypt の減少程度より HDS を求め, 病変形成の程度を数値化した。 2. Myeloperoxidase(MPO)活性 摘出した直腸のホモジェネートを用いて, MPO 活性を測定した。 3. 大腸粘膜中サイトカイン値 摘出した直腸のホモジェネートを用いて, 粘膜中 IL-1β・IL-6・TNFα 値を ELISA 法にて測定した。 4. 大腸粘膜中 PGE2, TXB2, LTB4 値 摘出した直腸をエチルアルコール下でホモジェネートし, その上清を用いて測定した。 	

5. COX-2 の発現

摘出した直腸組織を抗マウス COX-2 ポリクローナル抗体を用いて免疫染色し、COX-2 の発現を検討した。

[結果]

1. WBC 値・Hb 値・腸管長・Disease Activity Index(DAI)・Histological damage score(HDS)

Control 群・SHI-219 投与群間において、WBC 値、Hb 値に有意差は認めなかったが、Hb 値は SHI-219 投与群でやや改善していた。腸管長は SHI-219 投与群で短縮傾向にあったが、Control 群に比し有意にその程度は軽微であった。また、DAI・HDS ともに SHI-219 投与群で有意に低値であった。

2. Myeloperoxidase(MPO)活性

MPO 活性は Normal 群・SHI-219 投与群に比し、Control 群で有意に高かった。

3. 大腸粘膜炎中サイトカイン値

SHI-219 投与群においては、大腸粘膜炎中の IL1 β ・IL-6・TNF α 値は Control 群に比較し有意に低値を示していた。

4. 大腸粘膜炎中 PGE2, TXB2, LTB4 値

大腸粘膜炎中 PGE2 発現は、SHI-219 投与群、Control 群の間に差は認めなかった。一方、大腸粘膜炎中 TXB2, LTB4 値は Control 群に比し SHI-219 投与群で有意に低値を示していた。

5. COX-2 の発現

直腸粘膜炎における COX-2 の発現については、Normal 群では発現は認めなかったが、Control 群では粘膜炎基底部に著明な炎症細胞浸潤が見られ、同部に COX-2 の発現を強く認めた。また、SHI-219 投与群においても同様に COX-2 の発現が見られた。

[考按]

潰瘍性大腸炎やクローン病は未だ原因不明の難治性炎症性腸疾患である。現在、同疾患の治療薬として Sulfasalazine(SASP), 5-aminosalicylate(5-ASA), Corticosteroid 等が使用されているが、これらの薬剤の作用機序の一つとして炎症性サイトカインを抑制することが知られている。近年、炎症性サイトカインの一つである TNF- α に対する抗体療法(分子制御療法)の臨床効果が知られている。

申請者は、ヒト潰瘍性大腸炎の類似実験モデルである DSS 腸炎を作成し、SHI-219 の腹腔内投与による腸病変抑制効果を検討した。その結果、Cytoprotection 作用に働く PGE2 や COX-2 は抑制せず、TXA2 や LTB4 などの炎症惹起物質の産生を抑制していた。以上の実験結果より、SHI-219 は、炎症性サイトカインや炎症惹起物質の産生を抑制することで病変抑制効果を発揮することが示唆された。今後、潰瘍性大腸炎の病変が軽微な初期病変における新しい治療薬として SHI-219 の有用性が期待される。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙 第 号	氏 名	村野 直子
論文審査担当者		主 査 教授 勝 健 一 副 査 教授 谷 川 允 彦 副 査 教授 花 房 俊 昭 副 査 教授 森 浩 志 副 査 教授 玉 井 浩	
主論文題名 Therapeutic Effect of SHI-219 , A Novel Water Soluble Prodrug of EG626 (Phthalazinol), on Mouse Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis (マウス DSS 誘発腸炎における SHI-219(可溶性 EG626)の病変抑制効果)			
論文審査結果の要旨			
<p>本研究は、炎症性腸疾患の実験モデルである dextran sodium sulfate (DSS)腸炎を BALB/c 系雌性マウスに作成し、EG626(Phthalazinol) の可溶性プロドラッグである SHI-219 を腹腔内投与し、大腸病変抑制効果について検討したものである。本研究において得られた結果は下記の如くである。</p> <p>(1)SHI-219 投与群では、Control 群に比し、臨床的パラメーター(Hb 値、腸管長、Disease Activity Index)、病理組織学的指標(Histological damage score)の改善を認めた。</p> <p>(2) SHI-219 投与群においては Myeloperoxidase 活性、大腸粘膜中サイトカイン(IL-1β・IL-6・TNFα) 値においても、Control 群に比し有意に低値を示していた。</p> <p>(3)大腸粘膜中 PGE2 発現は、SHI-219 投与群、Control 群の間に差は認めなかった。一方、大腸粘膜中 TXB2、LTB4 値は SHI-219 投与群で有意に低値を示していた。</p> <p>(4)大腸粘膜中 COX-2 の発現については、SHI-219 投与群、Control 群ともに粘膜基底部に著明な炎症細胞浸潤が見られ、同部に COX-2 の発現を強く認めた。</p> <p>以上の結果より、SHI-219 は Cytoprotection に働く PGE2 や COX-2 は抑制せず、炎症性サイトカインや TXA2 や LTB4 などの炎症惹起物質の産生を抑制することで病変抑制効果を発揮することが示唆された。</p> <p>本研究は、炎症性腸疾患に対する新しい治療法開発への重要な情報を与えるものであり、その臨床的意義は高いと考えられる。</p> <p>以上により本論文は本学学位規程第3条第2項に定める所の博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p><主論文公表誌> BULLETIN OF THE OSAKA MEDICAL COLLEGE 52(2):69-79, 2006</p>			