

氏名(本籍)	樋口昭平
学位の種類	薬学博士
学位記番号	薬第261号
学位授与年月日	昭和61年12月10日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当

学位論文題目	新しい動物炎症モデルによる抗炎症薬の薬理学的研究
--------	--------------------------

	(主査)								
論文審査委員	教授	鶴藤	丞	教授	橋本	嘉幸			
				教授	佐藤	進			

## 論文内容要旨

1. プロスタグランジン (PGs) 生合成阻害作用を評価するための *in vivo* 試験法としてモルモット アラキドン酸皮膚発赤法を確立した。

アラキドン酸40  $\mu\text{g}$ をモルモット側腹部に皮内注射すると3ないし5分後より注射部位に発赤が徐々に生じ、同様にプロスタグランジン $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) を注射した場合には直ちに発赤が生じた。アラキドン酸による皮膚発赤は、PGs生合成阻害作用をもつ酸性非ステロイド系抗炎症薬 (NSAID) によって抑制されたが、PGs生合成阻害作用がないか、あるいは弱い塩基性非ステロイド系抗炎症薬 (BNSAID)、ステロイド系抗炎症薬 (SAID) および抗酸化剤には皮膚発赤の抑制作用は認められなかった。シプロヘプタジンおよびモルヒネにはアラキドン酸皮膚発赤に対する抑制作用は認められず、この発赤にはヒスタミン、セロトニンおよび中枢神経系の関与はないものと思われる。 $\text{PGE}_2$ による皮膚発赤に対してはNSAIDの抑制作用は認められなかった。アラキドン酸類似の不飽和脂肪酸であるリノール酸、リノレン酸および $\gamma$ -リノレン酸の皮内注射では発赤は認められなかった。ビスホモ $\gamma$ -リノレン酸の皮内注射によっても皮膚発赤が生じた。この発赤はビスホモ $\gamma$ -リノレン酸が $\text{PGE}_1$ などのタイプ1のPGsに変換されることによって生じるものと考えられ、ジクロフェナクナトリウムによって抑制された。以上のことからアラキドン酸皮膚発赤は、皮膚に注射されたアラキドン酸から変換されてできたPGsによる血管拡張反応であると考えられ、本法は抗炎症薬などのPGs生合成阻害作用を*in vivo*で調べるための手段となり得るものである。

2. 抗炎症薬の炎症性疼痛緩解作用を感度よく簡便に検出でき、さらに化学的仲介物質の関与についても検討することのできる動物炎症モデルとしてアジュバント急性炎症足跛行法を確立した。

0.5% *Mycobacterium tuberculosis*-流動パラフィン懸濁液0.1mlをラット後肢足蹠に皮下注射すると急性浮腫の形成に伴って炎症足の疼痛閾値が低下し、ラットは炎症足を床から離して三足歩行 (跛行) を示した。この跛行反応に対し、NSAIDはPGs生合成阻害作用の強さに相関した抑制作用を示した。一方、PGs生合成阻害作用がないか、あるいは弱いBNSAIDの作用は弱いものであった。炎症部位への $\text{PGE}_2$ の注射によって、NSAIDの作用は消失したがBNSAIDの作用は消失しなかった。アジュバント急性足浮腫ラットにおいて、炎症足跛行反応を指標とした方が、炎症部位への加圧による跳き、逃亡および啼声反応を指標とするよりも著しく低用量でNSAIDの鎮痛作用を検出することができ、このことはイースト足浮腫および硝酸銀関節炎ラットでも同様であり、それぞれ加圧あるいは屈曲・伸展刺激法によるよりも跛行反応を指標とした方がより低用量で薬物の作用を検出することができた。モルヒネ、ペンタゾシンおよびアセトアミノフェンも跛行反応を抑制し、これらの作用は炎症部位への $\text{PGE}_2$ の注

射で消失しなかった。ジアゼパム、メフェネシン、シプロヘプタジンおよびイミプラミンは跛行反応を抑制しなかったが、ハロペリドールとアトロピンは跛行反応を抑制した。以上のことは、炎症性疼痛においてはPGsが重要な役割を果たしており、ANSAIDは炎症部位でPGs生合成を阻害して鎮痛作用を発揮し、BNSAIDは主に中枢神経系に作用して鎮痛作用を発揮するという従来の考えを支持しており、炎症足跛行法は抗炎症薬の炎症性疼痛緩解作用を評価する方法として有用であると考えられる。

3. 上記の動物炎症モデルを用いて新規プロピオン酸系抗炎症物質であるTA-60およびTA-668の抗炎症・鎮痛作用へのPGs生合成阻害の関与を調べた。また、TA-60の低消化管障害性の機序を解明するために、TA-60の消化管粘膜に対する作用を検討した。

TA-60, TA-668, インドメサシンおよびイブプロフェンはデキストラン, セロトニンおよびカラゲニン+PGE<sub>2</sub>による足浮腫を抑制しなかった。一方、BNSAIDであるメピリゾールと塩酸チアラミドはカラゲニン+PGE<sub>2</sub>足浮腫に対して有意な抑制作用を示した。TA-60とTA-668はインドメサシンおよびイブプロフェンと同様にモルモットアラキドン酸皮膚発赤を抑制したが、PGE<sub>2</sub>皮膚発赤に対しては抑制作用を示さなかった。アジュバントによる急性足浮腫ラットの炎症足跛行反応に対し、TA-60, TA-668, インドメサシンおよびイブプロフェンは用量依存的な抑制作用を示し、それらの作用はいずれも炎症部位へのPGE<sub>2</sub>の注射によって消失した。

TA-60はHCl, NaOHおよびNaOH+エタノールによる胃粘膜障害を抑制した。また、TA-60のヒマシ油による下痢の発生時間の延長作用はイブプロフェンにくらべて著しく弱いものであった。以上の結果から、TA-60とTA-668の抗炎症・鎮痛作用はインドメサシンなどのANSAIDと同様に炎症局所におけるシクロオキシゲナーゼ阻害によるPGs生合成の抑制によるものと考えられる。また、TA-60の低消化管障害性は、TA-60のある種の胃粘膜保護作用および消化管粘膜でのPGE<sub>2</sub>産生の抑制作用が弱いことなどによるものと推察される。

4. アスピリンとサリチル酸の抗炎症作用を比較検討した。

カラゲニン足浮腫, 綿球肉芽腫およびアジュバント関節炎に対してアスピリンとサリチル酸は同程度の抑制作用を発揮した。一方、紫外線紅斑およびアラキドン酸皮膚発赤に対しては、アスピリンが抑制作用を発揮したのみでサリチル酸は無効であった。カラゲニン+PGE<sub>1</sub>足浮腫に対してアスピリンとサリチル酸は同等の抑制作用を発揮した。これらのことはアスピリンによるシクロオキシゲナーゼのアセチル化にもとづくPGs生合成阻害作用は、アスピリンの血管透過性亢進および肉芽腫増殖反応の抑制作用, すなわち抗炎症作用には大きく関与していないことを示唆している。以上のことからアスピリンは主にサリチル酸として抗炎症作用を発揮しているものと考えられ、その作用はシクロオキシゲナーゼ阻害によるPGs生合成の抑制のみでは説明で

きないものであった。

5. アスピリンとサリチル酸の鎮痛作用を比較検討し、またサリチル酸の鎮痛作用部位についても検討を加えた。

アジュバント関節炎疼痛法およびアジュバント急性炎症足跛行法において、アスピリンの鎮痛作用はサリチル酸の作用にくらべて約4ないし5倍程度強いものであった。アジュバント急性炎症足跛行法において、炎症部位へのPGE<sub>2</sub>の注射によってアスピリンの効力がサリチル酸の効力のレベルにまで減弱した。一方、サリチル酸の効力はほとんど影響をうけなかった。アジュバント急性炎症足跛行法において、脳室内投与した場合、サリチル酸は炎症足跛行反応を抑制したがケトプロフェンおよびフルルビプロフェンは抑制作用を示さなかった。次に、軟膏剤として炎症足に塗布した場合、ケトプロフェンとフルルビプロフェンは跛行反応を抑制したがサリチル酸は抑制しなかった。しかし、同様の投与方法でサリチル酸はケトプロフェンおよびフルルビプロフェンと同様にカラゲニン足浮腫の形成を抑制し、抗炎症作用を発揮した。以上のことから、アスピリンは炎症局所でのシクロオキシゲナーゼのアセチル化によるPGs生成阻害にもとづく作用とサリチル酸としての作用の両方によって鎮痛作用を発揮しているものと考えられる。また、サリチル酸の鎮痛作用部位は炎症局所ではなくて中枢神経系であると推察される。

6. BNSAIDの足浮腫抑制作用の性質をラットカラゲニン足浮腫法にて検討した。

薬物を起炎剤であるカラゲニンとともに足蹠に注射（局所投与）した場合にはANSAIDであるインドメサシン、フェニルブタゾンおよびケトプロフェンはカラゲニン足浮腫の形成を抑制した。一方、BNSAIDであるメピリゾール、塩酸チアラミドおよびアミノピリンは無効であった。経口および皮下投与（全身投与）の場合にはBNSAIDの塩酸チアラミドやベンジダミンなどは足浮腫を抑制し、その程度は摂食ラットよりも絶食ラットにおいて強かった。一方、ANSAIDの足浮腫抑制作用は絶食ラットと摂食ラットの間で差は認められなかった。以上のことから、BNSAIDの足浮腫抑制作用は炎症局所において発揮されるものではなくて何らかの全身的作用によるところが大きいと考えられる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文は全6章より成り、第一章においてはモルモットの皮内にアラキドン酸を注射して惹き起こされる皮膚発赤がシクロオキシゲナーゼ阻害作用を持つ各種の非ステロイド抗炎症薬によって抑制される一方、プロスタグランジンE<sub>2</sub>による発赤は抑制されず、またアラキドン酸皮膚発赤に対して塩基性非ステロイド抗炎症薬は抑制せず、シクロオキシゲナーゼ阻害作用を持つ非ステロイド抗炎症薬に特異的な *in vivo* の試験系であることを示した。

第2章においてはプロスタグランジン合成阻害作用に基づく抗炎症薬の炎症性疼痛緩解作用を感度よく、かつ簡便に測定できるモデルとして、ラットの後肢にアジュバントを注射して急性炎症を惹起した場合の炎症足跛行を観察する方法（ラットアジュバント急性炎症足跛行法）の開発について述べ、この方法が炎症局所でのプロスタグランジン合成阻害作用に基づく鎮痛作用を精度よく反映することを証明した。

第3章においては上記の炎症モデルを新規のプロピオン酸系抗炎症薬であるTA-60およびTA-668の作用解析に活用し、これらの抗炎症作用におけるプロスタグランジン合成阻害の役割を調べ、さらにこれらの抗炎症薬は消化管におけるプロスタグランジン合成阻害作用が弱いため消化管傷害発現の副作用が少ないのみならず塩酸や苛性アルカリによる胃粘膜傷害に対して保護作用を表わすことを示した。また、いわゆる塩基性抗炎症薬と酸性抗炎症薬との作用メカニズムの比較検討を行ない塩基性抗炎症薬はプロスタグランジンの生成を阻害することとは無関係であることを示した。

第4章においてはアスピリンとサリチル酸の抗炎症作用の比較検討を行ない、これらの薬物の抗炎症作用はプロスタグランジン合成阻害だけでは説明の出来ない部分のあることを示した。

第5章においてはアスピリンとサリチル酸の炎症痛抑制作用を比較検討し、アスピリンは炎症局所におけるプロスタグランジン合成抑制のほかにサリチル酸に代謝された後に中枢性にも鎮痛作用を発現することを示した。

第6章においてはいわゆる塩基性抗炎症薬と酸性抗炎症薬の作用を比較検討し、前者は炎症局所に直接的に作用するものではなく、全身作用によって抗炎症効果を表わすことを示した。

以上、本研究は抗炎症薬の薬理学研究の発展に貢献したもので薬学博士の学位を授与するに値すると判定した。