消化管上皮と Nitric Oxide (NO) : NO は善か悪か?

富田 幹雄

Mikio TOMITA

広範な生命現象を司る一方で、種々疾患への関与という歓迎されない面も指摘されている Nitric Oxide (NO) の消化管上皮細胞に対する作用をいくつか紹介してみたいと思う。

たとえば薬物のバイオアベイラビリティーの改善を念頭において NO を吸収促進剤のような添加剤として考えた場合、Salzman らの報告はどうであろうか? 彼らは Caco-2 細胞を用いて NO ドナーの粘膜側添加が膜電位差より算出できる膜抵抗値を濃度依存的に減少させることを示した¹⁾。これは Tight Junction (TJ) の開口を意味するものであり、Paracellular Route 経路で水溶性高分子薬物の膜透過性を促進できる可能性の事例と位置づけられる。彼らはこのメカニズムとして、NO ドナーから生成した NO の直接作用であることを提唱している。しかしこの結果がガン細胞由来の単層膜における事例であること、NO の反応性や半減期などを考慮すると作用点も曖昧であり、NO の直接作用と考えるにはさらなる検討が必要と思われる。

一方、これ以前に Kubes は i.v. 投与した NO synthesis (NOS) 阻害剤が水溶性物質のモデルとして用いた ⁵¹Cr-EDTA の Plasma to Lumen の膜透過クリアランスを増加させる²⁾という結果を報告している。彼らは EDTA の透過ルートを Paracellular Route としているが、それは NO レベルの低下が TJ を開口するからであるとしている。これには NO が Guanylcyclase を活性化し、Myosin Light Chain (MLC) の脱リン酸化が促進されるため、血管平滑筋が弛緩するという機構が根拠となっている。つまり NO の既に実証されている機構を逆手に取った解釈である。もちろん血管内 NO レベルの低下が平滑筋細胞を収縮させ内皮細胞の TJ 開口を誘導することは十分考えられるが、消化管上皮細胞の TJ に対する作用はどうであろうか? その後の研究により彼らは NOS 阻害剤の消化管上皮細胞に対する作用は Mast Cell を介した機構であると報告している³⁾。

このように一見矛盾する NO 作用の二面性に関しての考察として、たとえば NO はそれ自身では過激な反応を行わないが、二次的に高い酸化活性の反応種 (Peroxynitrite : ONOO) を生み出すことに起因してい

る可能性⁴⁾、NO レベルの影響が上皮細胞以外の部分にいち早く出る可能性³⁾などが考えられる。また NO がサイトカイン、血小板活性化因子、ケミカルメディエーターなどにより生成される⁵⁾こと、活性酸素種も Paracellular Route マーカーの透過性を上昇させる⁶⁾ことなどから、NO の病態生理学的機構を論ずるには NO と活性酸素種とのクロストークが必要と考える。

また Szabo らは ONOO が Poly (ADP-Ribose) Synthetase (PARS) の活性化を介して DNA の Strand Break を引き起こすことを、ヒト肺上皮細胞を使った検討から証明した⁷⁾。このカスケードには脂質過酸化や GSH レベル、あるいは ATP レベルの変化が影響すること、そして最終的にミトコンドリアの呼吸鎖機能への影響を示唆しており、非常に興味深い知見である。この PARS 活性が最近非常に注目を集めているものの一つである。

一方、創薬という観点から眺めてみると、たとえば程度の異なる炎症性腸疾患に対する NO の作用はどうであろうか? 程度の軽い疾患に対しては NO 作用は善玉的である。これは NO が抗酸化剤として作用する可能性が考えられるが、内因性 NO と外因性 NO との区別が曖昧であり、まだまだ議論の余地があると推察する。一方、重篤な疾患の場合には症状をさらに悪化させることがいくつか実験的に証明されている。

NO は大気汚染物質として評価されているが、生体内 (血管系、免疫系、神経系) にはその合成酵素も見出されている。活性酸素種と同様、情報伝達物質として種々の生理活性作用を示すことが知られている NO ではあるが、消化管上皮細胞に対する作用はほとんど明らかになっていない。イオン種であると同時にラジカル種もあり、また細胞毒性種であると同時に生理活性種でもある NO の生理的条件下および各種病態時における体内動態の把握と、他の生体成分との反応性を正しく理解することがもっとも重要である。そして NO レベルの巧みな制御が可能となれば創薬への期待も高まると考える。今後の研究の発展に期待したい。

文 献

- 1) Salzman A. L. et al.: *Am. J. Physiol.*, **268**: G361-G373 (1995).
- 2) Kubes P.: *Am. J. Physiol.*, **262**: G1138-G1142 (1992).
- 3) Kanwar S. et al.: *Am. J. Physiol.*, **266**: G222-G229 (1994).
- 4) Sandoval M. et. al.: *Gastroenterology*, **113**: 1480-1488 (1997).

- 5) Dignass A. U. *et al.*: *Dig. Dis. and Sci.*, **40**: 1859-1865 (1995).
- 6) Baker R. D. *et al.*: *Dig. Dis. and Sci.*, **40**: 510-518 (1995).
- 7) Szabo C. *et al.*: *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **16**: 105-109 (1997).

(東京薬科大学薬学部第二薬剤学教室)

ヒスタミン *N*-メチルトランスフェラーゼの遺伝多型

小 林 カオル
Kaoru KOBAYASHI

ヒスタミンは生体アミンとして血管拡張、気管支収縮、胃酸分泌などの重要な役割を果たしている。一方、その過剰作用はⅠ型アレルギー（蕁麻疹、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アナフィラキシーショック）や胃・十二指腸潰瘍を引き起こす。ヒスタミンの不活化系にはジアミノオキシダーゼによる酸化系と *N*-メチルトランスフェラーゼ（histamine *N*-methyltransferase, HNMT）によるメチル化系があり、主経路は動物種、臓器により異なる。他の生体アミンであるカテコラミンの不活化酵素であるカテコール *O*-メチルトランスフェラーゼの活性には遺伝多型に基づく個体差が存在することから、HNMT 活性の個体差についても遺伝多型との関連性が注目されている。

最初に HNMT 活性に関する薬理遺伝学的研究が報告されたのは 1988 年のことである¹⁾。51 家族 241 名を対象として赤血球中の HNMT 活性を測定したところ、3 倍以上の個体差が認められた。この HNMT 活性のパラッキは親子間では高い相関性を示すものの、夫婦間では非常に低く、赤血球中の HNMT 活性における個体差が遺伝的要因により調節されていることが示唆された。その後、HNMT mRNA が心臓、脳、胎盤、肺、肝臓、腎臓、骨格筋、脾臓など多臓器に発現していることが確認された。さらに、Girard ら²⁾と Yamauchi ら³⁾の 2 グループにより HNMT のクローニングが行われたが、得られた HNMT の塩基配列には 2 ヲ所の相違が認められた。すなわち、Girard らの報告では 314 番目の塩基はチミン (T)、595 番目の塩基はアデニン (A) であったのに対し、Yamauchi らの報告では 314 番目の塩基はシトシン (C)、595 番目の塩基はグアニン (G) であった。これらの報告に基づき、Presuss らは 114 例の腎組織より調製したゲノム DNA を用い、PCR-RFLP 法による遺伝子解析を行った⁴⁾。その結果、92 例は C314 のホモであったが、20 例は C314 と T314 のヘテロであり、2 例は T314 のホモであった。つまり、C314 と T314 の遺伝子頻度はそれぞれ 0.9 と 0.1 であった。一方、G595 は検出されず、いずれも A595 であった。遺伝子解析に用いた 114 例の腎組織より調製したサイトゾール画分を用いて HNMT 活性を測定したところ、T314 のホモは C314 のホモおよび C314 と T314 のヘテロと比較して有意に低い活性および低い熱安定性を示した。また、COS-1 細胞に T314 あるいは C314 をコードする HNMT cDNA を発現させた場合にも、T314 を保有する組換え HNMT は C314 を保有する組換え HNMT に比較して低い HNMT 活性と低い熱安定性を示した。発現蛋白量に関しても、T314 を保有する組換え HNMT は C314 に比較して低値であった。したがって、314 番目の C から T への一塩基置換による Thr¹⁰⁵ から Ile¹⁰⁵ への変異は HNMT の活性、蛋白量および熱安定性を低下させると考えられる。これらの知見は、HNMT の遺伝多型が HNMT 活性の個体差に関係することを示唆するものである。

Yamauchi ら³⁾は、ヒスタミンによる気管支収縮反応が HNMT 阻害剤により増強されるが、ジアミノオキシダーゼ阻害剤による影響をほとんど受けないことを明らかにした。このことは、気道に発現する HNMT レベルがヒスタミンに対する気道反応性を決定する重要な因子であり、HNMT によるヒスタミンの不活化は気管支収縮の調節に深くかかわっていることを示唆した。この知見はヒスタミンの不活性能、すなわち HNMT 活性の異常がヒスタミン誘発性のアレルギーを強める原因の一つである可能性を示唆するものである。気道過敏症は遺伝的性質を示すことが知られており、その原因の一つとして HNMT 遺伝子の変異による HNMT 活性の個体差が挙げられるかもしれない。

また、ヒスタミンは中枢神経系における神経伝達物質の一つであり、睡眠と覚醒の調節や自発運動促進、摂食抑制、飲水促進などの中枢機能に重要な役割を果たすことが知られている。中枢神経系にはジアミノオキシダーゼが存在しないため、中枢におけるヒスタミン作用の調節には HNMT による不活化機構が特に重要である。したがって HNMT の遺伝多型に基づく HNMT 活性の個体差は、喘息、アレルギー、胃潰瘍だけでなく、神経精神疾患など中枢におけるヒスタミン作用との関係についても大変興味深い。