シクロオキシゲナーゼをめぐる最近の話題

—誘導型シクロオキシゲナーゼ-2の多彩な役割—

鹿 取 信*

Divergent Distribution and Roles of Inducible Cyclooxygenase-2

Makoto KATORI*

Key words: granuloma tissue, gastric ulcer, endometrium, reproductive system,
colon cancer.

1. 膜構成型シクロオキシゲナーゼ (COX)-1と誘導型 COX-2

プロスタグランジン (PG) 産生過程において、アラキドン酸に直接働く酸素の一つはシクロオキシゲナーゼ (COX) である。この COX 活性はアラキドン酸を PGG_2 に変換し、PG ヒドロペルオキシゲナーゼ活性は PGG_2 を PGH_2 に変換する。両活性とも同一蛋白質上に存在し、正式には両者を合わせて PG エンドペルオキシド生成酵素と呼ばれるが、ここではこれを「COX」と呼ぶことにする。

従来から知られていた COX に対し、サイトカインなどにより誘導される新しい COX-2 が最近発見され、従来の膜の構成型のものは COX-1 と呼ばれるようになった (1~3 参照)。両者の一次構造は約 60% の相同性を有し COX-2 の誘導が糖質コルチステロイドで抑制されることから、炎症に関係するといわれるようになった。選択的 COX-2 阻害薬も開発され始め、大正製薬が開発した NS-398 は図 1 のように酵素系を用いた *in vitro* の実験で、COX-2 は阻害するが COX-1 はほとんど阻害しない⁴⁾。このよ

うに NS-398 は世界的にも選択的 COX-2 阻害薬の標準品として用いられている。

2. 生体反応における COX-2 の役割

a. 急性渗出性炎症

ラットの胸腔に 1% λ -カラゲニンを注射しておこす胸膜炎モデルにおいては、渗出液量は 19 時間までほぼ均等に貯留するのに対して、20 分間の血漿蛋白質渗出量 (血漿渗出速度) はカラゲニン投与後 5 時間まで急激に増加し、以来 24 時間まで徐々に減少する。このピーク時間に一致して渗出液中では 6-keto-PGF_{1 α} , PGE₂, TXB₂ がそれぞれ 1, 3~5, 3~7 時間にピーク値を示し、9 時間以後はほぼ基礎値に戻る。アスピリンで前処置すると PGE₂ の出現に一致し、1~5 時間の 20 分間の血漿渗出速度が著しく抑制される^{5)~7)}。渗出液細胞中の COX 蛋白量を Western blott 法で調べると、渗出液細胞中の COX-2 は 1 時間から増大し 10 時間まで検出される^{5)~7)}。COX-2 の mRNA も検出される⁸⁾。COX-1 は末梢白血球、渗出液細胞を問わず一様に検出され、量も変わらない。5 時間の渗出液中の細胞は 90% 以上が好中球で、単核球は

* 北里大学医学部薬理〔〒228 相模原市北里 1-15-1〕: Department of Pharmacology, Kitasato University School of Medicine, Kitasato 1-15-1, Sagami-hara, Kanagawa, 228 Japan

図1 NS-398及びインドメタシンIMのCOX-1 (A) 及びCOX-2 (B) 活性に対する *in vitro* における抑制効果。COX-1はヒツジ精囊から精製し、COX-2はヒツジ胎盤から分離した(純度70%)。(文献4)より引用)

10%以下であるが、細胞の単位蛋白質量当たりのCOX-2量は単核球が多く、好中球では散発的に検出される。このことは強くCOX-2を表出している少数の単核球と、表出している細胞は少ないが圧倒的多数存在する好中球が、ほぼ均等にPGE₂産生に貢献していることを示している。選択的COX-2阻害薬であるNS-398でラットを前処置すると、血漿滲出速度及び滲出液量の著しい抑制と共に、滲出液中のPGE₂量が著しく減少するが、6-keto-PGF_{1α}やTXB₂には全く変化がない⁷⁾。

炎症を起こしたラットでも胃や腎臓ではCOX-1しか表現されていないので、選択的

COX-2阻害薬には胃粘膜傷害作用はほとんど有さない⁴⁾⁵⁾。血小板もCOX-1しか発現されておらず、細胞核がないのでCOX-2の誘導は起こらないと考えられる。

b. 増殖性炎症

COX-2は増殖性炎症にも誘導されることが次第に明らかになってきた。ラット・空気嚢にカラゲニンを注射後6日位でおこる増殖性肉芽腫においても、滲出性炎症に続いてCOX-2の誘導がおこる。COX-2活性の阻害ばかりでなく、COX-2の誘導をも阻害するというT-614(富山化学)は肉芽腫の厚さの縮小と共にカルミンを指標として測定した新生血管数を抑制する⁹⁾。肉芽形成は創傷の治癒機転であるが、COX-2は肉芽形成、血管新生に関与することを示している。

c. 胃潰瘍の修復機構

ラット胃の漿膜下に醋酸を注射しておこす醋酸潰瘍は、ヒトの潰瘍に似て粘膜下組織や平滑筋に達する深い潰瘍を作ることが知られている。この潰瘍治癒及び肉芽形成においてもCOX-2が誘導される。即ち、醋酸注射5日目にCOX-2のmRNAがPCR法で検出された¹⁰⁾。したがって胃といえども潰瘍が形成され、その修復が肉芽によってなされる時には、やはりCOX-2誘導にもとづくPG産生があり、それにより肉芽形成あるいは血管新生がおこると思われる。

d. 子宮内膜増殖

結合組織増殖と血管新生が必ず定期的にかかる組織は子宮内膜である。発情間期(diestrus)を3つの段階に分けると、血清中エストラジオールはそのD-2よりD-3にかけて急に上昇しD-3で最大となり、発情前期(proestrus)には低下し、発情期(estrus)にはほとんど検出出来なくなる。COX-2はこれに一致して誘導され、図2に示す様にD-3で最大となり、proestrusには消失する¹¹⁾。生理痛にアスピリンなど鎮痛・解熱薬が用いられていることはよく知られたことである。

e. 排卵・分娩

卵胞における卵の排出にPGE₂、PGF_{2α}が必要で、COXが誘導されることはよく知られてい

たが、最近になり卵胞の顆粒細胞に COX-2 が誘導されることが明らかとなった¹²⁾。

また羊膜で分娩時 PGE₂, PGF_{2α} が産生されることは知られていたが、脱落膜にも COX-2 が誘導され、分娩に重要な役割を演ずる¹³⁾。

図 2 性周期中のラット子宮内膜における COX 蛋白質の変動。

Lane 1, 発情間期 (diestrus)-2; Lane 2, diestrus-3; Lane 3, 発情前期 (proestrus); Lane 4, 発情期 (estrus); Lane 5, diestrus-1.

70 kDa 分子マーカー蛋白質の位置を示してある。(文献 11) より引用

f. 破骨細胞

破骨細胞は骨吸収をおこすが、前破骨細胞から破骨細胞への活性化は骨芽細胞の指令による。骨芽細胞がインターロイキン (IL)-1, などにより刺激されると COX-2 を誘導し, PGE₂ を産生し破骨細胞を活性化してその結果骨吸収をおこす^{14)~17)}。IL-1 α による COX-2 の誘導は IL-13, IL-4 で抑制される¹⁷⁾。

g. 大腸癌

アスピリンの服用頻度により 58% (服用なし) から 35% (毎日 16 回以上) に頻度依存的に有意に大腸癌の死亡率が減少することが報告された¹⁸⁾。アスピリン服用により、腸管出血が促進された結果、癌の早期発見—腫瘍摘出につながるなどの可能性があるので、本当にアスピリン服用と大腸癌死亡率の減少に直接の因果関係があるかどうかは、十分に批判的に調べられねばならない。しかし図 3 のように¹⁹⁾ 大腸癌組織のうち 19 例に COX-2 が検出され、25 例の正常大腸組織のうち 23 例には COX-2 が検出されなかったという報告は注目値する。一方 COX-1 はすべての正常組織及び腫瘍組織に検出された。こうした報告はまだなされたばかりであり多くの追試を必要とするが、COX-2 の特異阻害薬の治療応用範囲を考える上で、極めて重要で

図 3 正常ヒトの大腸粘膜および同一個体の腫瘍組織の PGHS-1, PGHS-2 蛋白質の代表的な immunoblot 解析

A: 抗 PGHS-1 抗血清を用いた免疫解析。

B: A と同じ解析を抗 PGHS-2 抗血清を用いて行ったもの。

No. 1~4: 25 例の検索した患者のうち代表的 4 例の患者の標本。N, T: それぞれ同一人の患者の正常大腸粘膜と腫瘍組織を示す。

PGHS: PGH 合成酵素 (=COX)

(文献 19) より引用

あると思われる。

あとがき

従来の細胞膜構成型の COX-1 の他に，誘導型の COX-2 が発見され急性滲出性炎症巣ばかりでなく，増殖性炎症や創傷治療，骨吸収，さらに生殖系にいたるまで広い範囲で検出されるようになった。将来の研究の発展が楽しみである。

文 献

- 1) 高橋吉孝, 山本尚三: シクロオキシゲナーゼ誘導の分子機構, 蛋白核酸酵素 **37**: 906-915, 1992.
- 2) 原田芳照, 鹿取 信: シクロオキシゲナーゼ-2 ー新しい非ステロイド性抗炎症薬の可能性, 炎症と免疫 **3**: 52-58, 1994.
- 3) 原田芳照, ほか: 炎症とプロスタグランジン. 現代医療 **27**: 117-123, 1995.
- 4) Futaki N., et al.: NS-398, a new anti-inflammatory agent, selectively inhibits prostaglandin G/H synthase/cyclooxygenase (COX-2) activity *in vitro*. Prostaglandins **47**: 55-59, 1994.
- 5) Harada, Y., et al.: Detection of inducible prostaglandin H synthase-2 in cells in the exudate of rat carrageenin-induced pleurisy. Biomed. Res. **15**: 127-130, 1994.
- 6) Katori, M., et al.: Induction of prostaglandin H synthase-2 in rat carrageenin-induced pleurisy and effect of a selective Cox-2 inhibitor. Adv. Prostaglandin, Thromboxane, Leukotriene Res. **23**: 345-347, 1995.
- 7) Harada, Y., et al.: Role of prostaglandin H synthase-2 in prostaglandin E₂ formation in rat carrageenin-induced pleurisy. Prostaglandins. (in press).
- 8) Harada, Y.: Possible contribution of Cox-2 to prostaglandin generation in a model of acute inflammation. The Second World Congress of Inflammation, Brighton, 1995 (abstract).
- 9) Tanaka, K.: Role of Cox-2 in air-pouch model. The Second World Congress of Inflammation, Brighton. 1995 (abstract).
- 10) Mizuno, H., Sakamoto, Ch., et al.: Increase in cyclooxygenase activity and cyclooxygenase-2 gene expression of experimental gastric ulcers in the mouse. (in press).
- 11) Shoda, T., et al.: Induction of Cyclooxygenase Type-2 (Cox-2) in rat endometrium at the peak of serum estradiol during the estrus cycle. Jpn. J. Pharmacol. **69**: 289-291, 1995.
- 12) Sirois, J., et al.: Hormonal regulation of messenger ribonucleic acid encoding a novel isoform of prostaglandin endoperoxide H synthase in rat preovulatory follicles. Induction *in vivo* and *in vitro*. J. Biol. Chem. **267**: 11586-11592, 1992.
- 13) Slater, DM., et al.: Expression of cyclooxygenase types 1 and 2 in human fetal membrane at term. Am. J. Obstet. Gynecol. **172**: 77-82, 1995.
- 14) Pilbeam, CC., et al.: Differential regulation of inducible and constitutive prostaglandin endoperoxide synthase in osteoblastic MC3TC-E₁ cells. J. Biol. Chem. **268**: 25643, 1993.
- 15) Brum-Fernandes, AJS., et al.: Expression of prostaglandin endoperoxide synthase-1 and prostaglandin endoperoxide synthase-2 in human osteoblasts. Biochem. Biophys. Res. Commun. **198**: 955, 1994.
- 16) Kawaguchi, HLG., et al.: Regulation of the two prostaglandin G/H synthetases by parathyroid hormone, interleukin-1, cortisol and prostaglandin E₂ in cultured neonatal mouse calvariae. Endocrinology **135**: 1157, 1994.
- 17) Onoe, Y., et al.: IL-13 and IL-4 inhibit bone resorption by suppressing cyclooxygenase-2-dependent PG synthesis in osteoblasts. J. Immunol., 1996. (in press).
- 18) Thun, MJ., et al.: Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. N. Engl. J. Med. **325**: 1593-1595, 1991.
- 19) Kargman, SL., et al.: Expression of prostaglandin G/H synthase-1 and -2 protein in human colon cancer. Cancer Res. **25**: 2556-2559, 1995.