tiaprofen および indomethacin のラット胃粘膜 prostaglandin E₂ および prostacyclin に及ぼす影響

荒川哲男・佐藤博之・福田 隆・中村 肇・蝶野慎治・山田博明・樋口和秀・
佐久間裕之・平谷定彦・鎌田悌輔・小野時雄・小林純三*

Difference between tiaprofen and indomethacin in inhibiting endogenous prostaglandin E₂ and prostacyclin synthesis in rat gastric mucosa Non-steroidal antiinflammatory drugs (NOSAID) produce the gastric mucosal lesions by inhibiting prostaglandin (PG) synthesis in the gastric mucosa. We tested the ulcerogenicity and the potential of PG inhibition with tiaprofen and indomethacin in a same antiinflammatory dose (ED₅₀ on the carrageenin-induced foot edema) in rats. The animals were intragastrically given tiaprofen three times before sacrifice in a dose of 6 mg/kg or indomethacin in a dose of 4 mg/kg. Endogenous PGE₂ and prostacyclin in fundic and antral mucosa were determined by radioimmunoassay. Tiaprofen (3 times of 6 mg/kg, i.g.) is less potent than indomethacin (3 times of 4 mg/kg, i.g.) to produce the gastric mucosal lesions (ulcer index, 6.6 ± 1.0 vs. 20.6 ± 2.9 , significantly different at $P < 0.005$). Gastric mucosal PGE₂ is completely decreased in a same degree by either tiaprofen or indomethacin. However, the decrease of mucosal prostacyclin is significantly (fundus; $P < 0.025$, antrum; $P < 0.005$) less in tiaprofen-treated rats than in indomethacin treated one. These results suggest that the ulcerogenicity of tiaprofen is less potent than indomethacin, and this difference may cause from the mucosal prostacyclin levels.

Tetsuo Arakawa・Hiroshi Satoh・Takashi Fukuda・Hajime Nakamura・Shinji Chono・
Hiroaki Yamada・Kazuhide Higuchi・Hiroyuki Sakuma・Sadahiko Hiratani・
Teisuke Kamata・Tokio Ono・Kenzo Kobayashi*

* The Third Department of Internal Medicine, Osaka City University Medical School

消炎鎮痛剤の歴史は古く、それは、言い換えれば“痛み”の歴史ともいえる。古典的消炎鎮痛剤である aspirin は、今も臨床の場で頻用されており、その価値は衰えていない。しかし、その副作用としての急性胃粘膜病変の発生は大きな問題であり、アメリカでは、aspirinによる消化管からの出血量が年間1000万 l にも及ぶといわれている¹⁾。

これら非ステロイド系抗炎症剤(NOSAID)が、prostaglandins (PG) の合成酵素である cyclooxygenase の活性を阻害することが近年明らかにされ²⁾、NOSAIDによる消炎鎮痛作用の mechanism が説明できるようになった。PG は一方、胃においてはさまざまな実験潰瘍モデルで抗潰瘍作用を発揮することが報告されており³⁾、NOSAIDの副作用である急性胃粘膜病変発生の mechanism として、胃粘膜における内因性 PG の欠乏が考えられている。

さて、NOSAID の頻用が避けられない臨床の現状に

おいて、これら薬剤による副作用をいかに少なく抑えるかが焦点となっている。そこで、同じ抗炎症効果を発揮する薬剤でも、胃粘膜での PG 生合成能にどの程度の影響を与えるかが、これら薬剤の胃に対する副作用を判定する大きな指標となりうる。

本研究では、最近開発された NOSAID である tiaprofen の胃粘膜 PGE₂ および prostacyclin (PGI₂) に及ぼす影響を、抗炎症効果の指標である carrageenin edema に対する 50%有効量 (ED₅₀) で、indomethacin と比較検討した。

対象と方法

体重約 200 g の Wistar 系雄性ラットを実験に用いた。ラットは10～11匹を1群として、①対照群、②indomethacin 群、③tiaprofen 群の3群に分けた。indomethacin は1回量 4 mg/kg、tiaprofen は 6 mg/kg を、それぞれ絶食開始時、6、21時間後の計3回、アラビアゴムに懸濁し、0.5 ml/100 g の割合で無麻酔下にラットの胃内に注入した。対照群には、アラビアゴムのみ 0.5 ml/

* 大阪市立大学医学部第三内科学教室

100 g を胃内に注入した。ラットは絶食後24時間（薬剤最終投与後3時間）に断頭屠殺し、各群5匹は潰瘍係数の算定に、残りのラットは胃粘膜 PG の測定に供した。

(1) 潰瘍係数の算定法

摘出胃に1%ホルマリンを胃内に注入すると同時に、1%ホルマリン浴に浸し、5分後に大彎切開を加えて水洗し、胃体部および幽門部に発生した潰瘍の長径を合計しそのミリメートル数を、そのラットの潰瘍係数として表した。

(2) 胃粘膜 PG 測定法

ラットの胃を切除した後大彎切開を加え、水道水で洗浄した。胃体部と幽門部を約1cm²切り取り、既報⁹⁾に従って凍結下に各部の粘膜を剥離した。剥離した粘膜は秤量後、既報⁹⁾に従ってPGの抽出、分離を行い、radioimmunoassay 法で PGE₂ および 6-keto-PGF_{1α} を測定した。

すなわち、胃粘膜試料を秤量後、recovery marker として、³H-PGE₂ および ³H-6-keto-PGF_{1α} をそれぞれ 1,500 cpm 加え、3×10⁻⁴ M sodium metacresolinate を含む methanol 5 ml で homogenize し、homogenate に chloroform 10 ml を加え、強く攪拌した後30分間放置し、吸引濾過した。濾液を40°C 温浴中で N₂ 通気により蒸発乾固し、残渣に CCl₄ 5 ml および 10% methanol phosphate buffer 15 ml を加え、遠心分離 (3,000 rpm, 10分) 後、下層を除去した。1 N HCl で pH 3 とし、ethylacetate 15 ml を加え、遠心分離 (3,000 rpm, 5分) 後、下層を除去した。1 N NH₃OH 200 μl および methanol 2 ml を加え、40°C 温浴中で、N₂ 通気により蒸発乾固し、ethanol 2 ml で洗浄回収した。これを再度蒸発乾固し、残渣を、methanol/ethylacetate (1:1) の混液で溶解、薄層クロマトグラフィーにかけた。

展開溶媒は ethylacetate / acetic acid / isooctane / H₂O (110 : 20 : 50 : 100) の混液の有機層を用いて、PGE₂ および 6-keto-PGF_{1α} を分離した。PGE₂, 6-keto-PGF_{1α} は、それぞれの抗血清 (PGE₂-antiserum; Pasteur Institute, 6-keto-PGF_{1α}-antiserum; Ono Pharmaceutical Co., Ltd.) および ³H-PGE₂, ³H-6-keto-PGF_{1α} (New England Nuclear) を用いて radioimmunoassay 法で測定した。PGI₂ は、酸性下でほとんどが 6-keto-PGF_{1α} に変換され、最終産物となるため、6-keto-PGF_{1α} 値は PGI₂ 量を表すものとした。

推計学的有意差の検討は F 検定で行った。

成績

(1) tiaprofen および indomethacin による ulcerogenicity (図1, 2)

indomethacin 群では潰瘍係数は 20.6±2.9 と、対照群 (潰瘍係数 1.6±1.2) に比し、きわめて高値を示した

図1 the ulcerogenicity of tiaprofen or indomethacin

The values are the mean ± SE of 5 rats, shown as the ulcer index.

IM: indomethacin, TP: tiaprofen

* P<0.025, ** P<0.005, vs controls,

† P<0.005, vs IM

図2 macroscopic view of gastric erosions induced by intragastric administration of indomethacin (three times of 4 mg/kg) or tiaprofen (three times of 6 mg/kg). Tiaprofen is significantly (P<0.005) less potent than indomethacin in producing the gastric mucosal lesions.

(P<0.005). これに対し、tiaprofen 群では潰瘍係数 6.6±1.0 と、対照群に対しては高値を示した (P<0.025) もの、indomethacin 群と比較すると、その ulcerogenicity はきわめて低いものであった (P<0.005)。

(2) tiaprofen および indomethacin の胃粘膜 PGE₂ ならびに PGI₂ 量に及ぼす影響

PGE₂ に関しては、indomethacin 群では胃体部粘膜で対照群の 1.5%、幽門部で 0.7% と著明な低下を認めた (いずれも P<0.005)。tiaprofen 群においても胃体部粘膜で対照群 1.8%、幽門部で 2.1% と著明な低下がみられ (いずれも P<0.005)、indomethacin 群と tiaprofen 群との間には有意差は認められなかった (図3)。

一方、PGI₂ に関しては、indomethacin 群では、対照群の 15.7% (P<0.005)、幽門部粘膜 13.0% (P<0.025)

図3 inhibitory effect of tiaprofen or indomethacin on mucosal prostaglandin E₂ in rat stomach

The values are the mean $\pm$ SE of 5~6 rats, shown as percent changes from the control values.

IM: indomethacin, TP: tiaprofen

** $P < 0.005$, vs controls

と著明な低下がみられたが、tiaprofen 群では胃体部粘膜で対照群の37.3% ($P < 0.005$)、幽門部粘膜では91.9% (not significant) と低下が軽度であった。また、indomethacin 群との比較においては、tiaprofen 群が胃体部粘膜 ($P < 0.025$)においても幽門部粘膜 ($P < 0.005$)においても、有意の高値を示した(図4)。

考案

PG は、1967年に Robert ら⁹⁾により、酸分泌抑制作用を発揮することが PGE およびAで初めて明らかにされ、抗潰瘍作用を期待しうる新しい物質として注目され始めた。しかし、PG を世界的なセンセーションの渦に巻き込んだのは1979年の Robert ら⁷⁾の報告が発端となった。すなわち彼らは、ラットを用いて、外因性のさまざまなPG およびそのメチル誘導体を前もって投与しておく、necrotizing agent と呼ばれる0.6 N HCl、0.2 N NaOH、25% NaCl および boiling water による胃粘膜壊死が見事に抑制されること、またそれに必要なPGの投与量は、酸分泌抑制を発揮しえないごく微量でよいことを見出したのである。この作用は“cytoprotection”と呼ばれ、現時点では、消化管においてPGのもつもっとも基本的かつ重要な作用と考えられている。この作用はPGE₂ および PGI₂ がもっとも強いとされている⁹⁾。

図4 inhibitory effect of tiaprofen or indomethacin on mucosal prostacyclin in rat stomach

The values are the mean $\pm$ SE of 5~6 rats, shown as percent changes from the control values.

IM: indomethacin, TP: tiaprofen

** $P < 0.005$, vs controls, † $P < 0.025$, †† $P < 0.005$, vs IM

胃粘膜には比較的多量のPGが含まれており、なかでもPGE₂やPGI₂といったcytoprotective PGがもっとも多く含有され⁹⁾、また生合成されている⁹⁾。胃が食餌や酸などの刺激に常にさらされていることを考えると、胃粘膜にこのようなcytoprotective PGが多く含まれていることは合目的であるといえよう。

胃粘膜に含まれる内因性PGが、生理機能として胃粘膜を保護している証拠に、“adaptive cytoprotection”がある。すなわち、0.25 N HCl¹⁰⁾や0.075 M NaOH¹¹⁾などのmild irritantが胃粘膜PGE₂を増加させることが報告されているが、このとき、necrotizing agentを胃内に注入しても胃粘膜壊死が抑制されるといわれている。このように、胃粘膜に含まれる内因性PGの役割は、きわめて重要といえる。

NOSAIDが急性胃粘膜病変を惹起させる機序として、Davenport¹²⁾はHイオン逆透過説を打ち出し、Menguy¹³⁾は胃粘膜の産生および分泌の低下を報告したが、いずれも胃防御機構の低下に結び付くものである。そして、その後のNOSAIDがPG生合成酵素を阻害するというVane²⁾の発見は、NOSAIDによる胃粘膜病変の発生病機序の根本に胃粘膜PGの欠乏を想定させる大きな発見であり、それまで説明されていたNOSAIDによる病変発

生機序が、PG の欠乏を介して生じていることがわかってきた。

筆者ら¹⁴⁾は、ラットに indomethacin を投与した実験で、水素クリアランス法を用いて胃粘膜血流を測定した結果、dose-dependent に血流が減少することを見出したが、これは内因性 PG のなかでも特に PGI_2 の合成抑制を反映する結果と解釈しうる。外因性 PGI_2 は、胃粘膜血流を著明に増加させることが報告されており¹⁵⁾、この作用は PGE_2 にも若干認められるものの、 PGI_2 のもつ作用の特徴といえよう。

PGI_2 と PGE_2 の cytoprotective effect の程度を比較すると、Robert ら⁶⁾のラットを用いた実験によれば、皮下注射での ED_{50} は PGI_2 で 0.05 mg/kg, PGE_2 で 0.1 mg/kg とほぼ同等であるといえる。これがそのまま内因性 PG にあてはまるわけではないが、胃粘膜に PGI_2 と PGE_2 の両者が多く含まれていることも考え合わせると、この両 PG いずれもが胃での cytoprotection にもっとも重要であると考えられる。

本研究において、tiaprofen を代表的な NSAID である indomethacin と比較して、ラット胃粘膜のこれらの cytoprotective PG に及ぼす影響を検討した。使用した両薬剤の投与量は、抗炎症モデルとして有名な carrageenin edema に対する ED_{50} を用いた。したがって、同等の抗炎症効果を発揮しうると考えられる量であるが、胃粘膜における PG 抑制効果は、両薬剤で大きな差がみられた。すなわち、粘膜 PGE_2 に対しては tiaprofen と indomethacin でほとんど差を認めなかったが、粘膜 PGI_2 に対しては indomethacin の著明な抑制作用に反し、tiaprofen ではその抑制がきわめて弱く、胃粘膜 PGI_2 量がある程度維持されていた。先に、cytoprotection における PGI_2 の意義を強調したが、tiaprofen のこの利点が本研究において indomethacin との潰瘍係数の差を生んだ原因と解釈することができる。

tiaprofen と indomethacin で胃粘膜 PGI_2 に及ぼす影響が異なる理由については、今のところ推論の域を出ない。粘膜 PGE_2 に対する抑制効果が両薬剤でほぼ同等であったことを考えると、tiaprofen に PGI_2 の代謝酵素に対する阻害作用がプラスされている可能性が考えられなくもない。これらの点を含めて、さらに詳細な検討が必要であらう。

文 献

- Ingelfinger, F.J.: The side effects of aspirin. *New Engl. J. Med.* 290: 1196-1197, 1974.
- Vane, J.R.: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drug. *Nature New Biol.* 231: 232-235, 1971.
- Johansson, C., Bergström, S.: Prostaglandins and protection of the gastroduodenal mucosa. *Scand. J. Gastroenterol. (suppl.)* 77: 21-46, 1982.
- Kobayashi, K., Arakawa, T., Nakamura, H., Chono, S., Yamada, H., Yamamoto, S.: Determination of prostaglandins and the effect of indomethacin on rat gastric mucosa. *Tohoku J. Exp. Med.* 135: 371-378, 1981.
- Kobayashi, K., Arakawa, T., Nakamura, H., Chono, S., Yamada, H., Satoh, H., Ono, T.: Effect of gefarnate on endogenous prostacyclin, prostaglandin E_2 and thromboxane in water-immersed rats. *Tohoku J. Exp. Med.* 140: 181-185, 1983.
- Robert, A., Nezamis, J.E., Phillips, J.: Inhibition of gastric secretion by prostaglandins. *Am. J. Dig. Dis.* 12: 1073-1076, 1967.
- Robert, A., Nezamis, J.E., Lancaster, C., Hanchar, A.J.: Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. *Gastroenterology* 77: 433-443, 1979.
- Robert, A., Hanchar, A.J., Lancaster, C., Nezamis, J.E.: Antisecretory and cytoprotective effects of prostacyclin (PGI_2). *Fed. Proc.* 37: 1315, 1978 (abstr.)
- 中村 肇, 荒川哲男, 小林純三: ラット胃における prostaglandins の合成・遊離に関する研究. *日消誌* 79: 1996, 1982.
- 荒川哲男, 中村 肇, 蝶野慎治, 山田博明, 小林純三: ラット胃粘膜 prostaglandin E_2 に関する研究 (第3報)—HCl による影響—. *日消誌* 78: 20-23, 1981.
- Robert, A., Nezamis, J.E., Lancaster, C., Davis, J.P., Field, S.O., Hanchar, A.J.: Mild irritants prevent gastric necrosis through "adaptive cytoprotection" mediated by prostaglandins. *Am. J. Physiol.* 245: G113-G121, 1983.
- Darvenport, H.W.: Salicylate damage to the gastric mucosal barrier. *New Engl. J. Med.* 276: 1307-1312, 1967.
- Menguy, R.: Gastric mucus and the gastric mucous barrier. *Am. J. Surg.* 117: 806-812, 1969.
- 荒川哲男, 小林純三: 十二指腸潰瘍とプロスタグランディン. 十二指腸潰瘍研究 第3集. *Duodenal Club 編. 医学書院* (in press)
- Konturek, S.J., Robert, A., Hanchar, A.J., Nezamis, J.E.: Comparison of prostacyclin and prostaglandin E_2 on gastric secretion, gastrin release and mucosal blood flow in dogs. *Dig. Dis. Sci.* 25: 673-679, 1980.