

33. LPS 暴露による消化管平滑筋収縮抑制作用機序

= 消化管常在型マクロファージからの iNOS と COX-2 の誘導 =

東京大学・院・農学生命科学・獣医薬理¹, 名古屋大学・院・医学研究科・分子細胞学²
堀 正敏¹, 鳥橋茂子², 佐藤晃一¹, 尾崎 博¹, 唐木英明¹

【目的】腸炎や敗血症発症時において血中のLPS濃度が増加すると消化管運動の低下をきたすことが知られているが、その作用機序については明らかではない。本研究では、摘出回腸組織標本をLPSとともに器官培養することにより、LPSによる消化管平滑筋収縮抑制機序について検討した。【結果】摘出回腸標本をLPS 100 μ g/ml で4時間処置すると、charbachol (CCh)による収縮反応は有意に抑制され、この時 iNOS と COX-2 の mRNA レベルが有意に増加していた。iNOS と COX-2 のタンパク質レベルでの発現を組織免疫染色法で検討したところ、縦走筋と輪走筋の筋間層に両抗体に陽性反応を示す細胞が検出された。iNOS を産生する細胞は常在型マクロファージを特異的に認識する ED-2 抗体で染色され、さらに FITC-dextran を取りこむ貪食作用を有することも示された。一方、平滑筋細胞における iNOS と COX-2 の発現はほとんど検出できなかった。さらに、酵素抗体法により、LPS を暴露した回腸組織からは PGI₂ と PGF_{2 α} の産生が確認された。LPS とともに、COX 阻害剤である indomethacin 10 μ M を処置すると、iNOS の mRNA の発現は有意に抑制された。一方、NOS の阻害剤である N^G-monomethyl-L arginine (L-NMMA) 300 μ M を LPS とともに処置しても、LPS による iNOS の mRNA 発現には影響しなかった。また、COX-2 の mRNA の発現は indomethacin あるいは L-NMMA によって影響されなかった。LPS により抑制された CCh 収縮は、LPS とともに indomethacin または L-NMMA を作用させることにより、有意に回復した。【考察】LPS の暴露により、消化管平滑筋筋間層に分布する常在型マクロファージで iNOS と COX-2 が誘導され、これから産生される NO と PGs により消化管運動が抑制されることが示唆された。また、マクロファージにおける iNOS 発現は COX-2 を介した PGs により増加される可能性が示唆された。これらの反応は腸炎や敗血症時の消化管運動不全の発症機序の一因となっていると考えられる。

34. LPS による iNOS 誘導は IL-1 β 遺伝子発現を介している

徳島大学薬学部薬理学教室
久山哲廣, 山下裕美子, 福井裕行

我々はラット胸部大動脈標本を lipopolysaccharide (LPS; endotoxin) で刺激すると、L-arginine に対して弛緩反応を示すようになることを見だし、この弛緩反応の発現は血管平滑筋において inducible type の NO synthase (iNOS) が誘導されたことによることを明らかにしてきた。今回、LPS による iNOS 発現機序を代表的な炎症性サイトカインである IL-1 及び遺伝子発現に関与する蛋白キナーゼとの関連から検討した。mRNA 量は RT-PCR 法を用いて定量した。

血管標本を LPS で処理することにより産生される iNOS mRNA は、IL-1 receptor antagonist を同時処置することにより濃度依存的にはほぼ完全に抑制された。LPS は IL-1 の産生遊離を介して iNOS 遺伝子を発現することが示唆された。LPS 適用後 IL-1 β mRNA 量は速やかに増大し、適用 1 時間後にはほぼプラトーに達した。なお、同標本においては IL-1 α mRNA の存在は LPS 処置の有無にかかわらず見出し出されなかった。tyrosine kinase 阻害薬である herbimycin A は LPS 及び IL-1 β による iNOS mRNA 産生ならびに LPS による IL-1 β mRNA 産生を共に抑制した。LPS による IL-1 β 遺伝子発現及び IL-1 β による iNOS 遺伝子発現に至る情報伝達経路に tyrosine kinase が関与していることが示唆される。PKC 阻害薬である Ro 31-8220 も同様に LPS 及び IL-1 β による iNOS mRNA 産生ならびに LPS による IL-1 β mRNA 産生を抑制した。近年、PKC は cPKC, nPKC, aPKC の少なくとも 3 種の isoforms に分類できることが知られている。cPKC 及び nPKC を阻害する calphostin C は LPS 及び IL-1 β による iNOS mRNA 産生を抑制したが、LPS による IL-1 β mRNA 産生には影響を与えなかった。なお、IL-1 β による iNOS mRNA 産生は cPKC 阻害薬である Go 6976 により部分的に抑制された。

以上の結果より、ラット大動脈平滑筋標本において LPS は IL-1 β 遺伝子を tyrosine kinase/aPKC 依存的に発現させて IL-1 β を産生遊離し、これが autocrine/paracrine 的に平滑筋に働くことにより tyrosine kinase/cPKC/nPKC 依存的に iNOS を発現させている可能性が示唆された。