

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462030

研究課題名(和文)新規抗酸化剤ETS-GSによる潰瘍性大腸炎治療法の開発

研究課題名(英文)Development of the therapy on ulcerative colitis using new antioxidant ETS-GS

研究代表者

當寺ヶ盛 学(Toujigamori, Manabu)

大分大学・医学部・病院特任助教

研究者番号：40423701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：新規抗酸化剤ETS-GSは発症後の潰瘍性大腸炎の動物モデルの臨床症状、大腸の病理組織学的所見、炎症性サイトカインを抑制した。さらに、ETS-GS投与によりDSS誘導大腸炎マウスのケモカインである血清MCP-1、IL-1が減少した。MCP-1は単球を活性化するほか、好塩基球による化学伝達物質の遊離促進、T細胞走化性活性を有する。いっぽう発熱や急性期タンパク質の産生誘導、リンパ球の活性化などの炎症反応を惹起する効果をもつIL-1はMCP-1により産生を促されることより、これらケモカインの抑制効果がETS-GSによる大腸炎抑制の機序に深く関わることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：ETS-GS inhibited the clinical manifestations, histopathological findings of the colon, and inflammatory cytokine, in animal models of the DSS induced colitis. Furthermore, serum MCP-1 and IL-1, chemokines in the DSS induced colitis mouse were decreased by ETS-GS administration. MCP-1 has monocytic activating action, the free promotion effects of the mediator, T-cell chemotactic active effects. Whereas IL-1 has inflammatory promotion effects such as production of the protein in acute phase, the activation of lymphocytes, fever. IL-1 is promoted that production by MCP-1. It was suggested that the inhibitory effect of these chemokines was associated with a mechanism of the suppression of DSS induced colitis by ETS-GS.

研究分野：医歯薬学

キーワード：ETS-GS ケモカイン リンパ球 MCP-1 IL-1

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎は近年世界中で増加しつつある、原因不明の難病の一つである (Gastroenterology, 2012)。また、潰瘍性大腸炎 (UC) の発症に酸化ストレスが重要な働きをすることが明らかとなりつつある (Dig Dis Sci., 2007)。

したがって、酸化ストレスのコントロールができれば UC の発症あるいは再発を抑えることができるかもしれない。酸化ストレスを抑制する多くの薬剤候補がこれまで調べられてきたが、我々は最近強力な抗酸化作用を有する新規物質

( $\gamma$ -L-Glutamyl-S-[2-[[[3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-2H-1-benzopyran-6-yl]oxy]carbonyl]-3-oxo-3-[(2-sulfoethyl)amino]propyl]-L-cysteinylglycine sodium salt) (ETS-GS) の合成に成功した。

ETS-GS はビタミン E 誘導体であり、ビタミン E、タウリン、グルタチオンの新規化合物である (特願 2000-526501)。ETS-GS は、1) 強力な抗酸化作用を有し、2) 水溶性であるため薬物としての応用が可能であり、3) 空气中で安定であり製剤化に有利である。そして最も重要なことに溶血性がなくこれまで多くのビタミン E 誘導体のような深刻な副作用がないという多くの長所を有している (Int J Colorectal Dis, 2012, in press)。

われわれはこの ETS-GS を潰瘍性大腸炎の動物モデルであるデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘導性大腸炎マウスに経皮的に投与したところ、その臨床症状、大腸の病理組織学的所見 (図 1, 2) の改善を認めた。

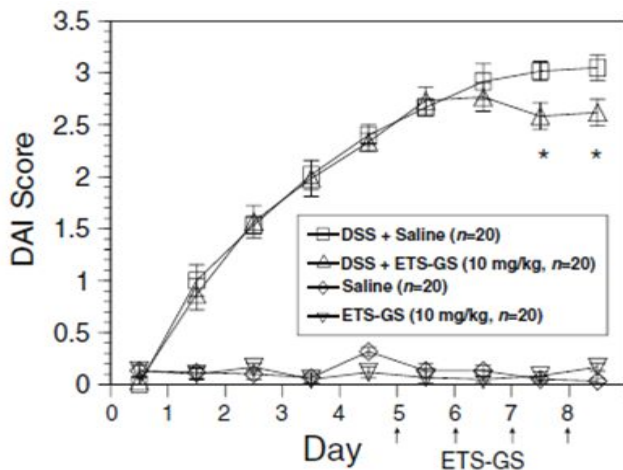


図 1. Disease activity index score. 黒矢印は ETS-GS もしくは生食投与日。

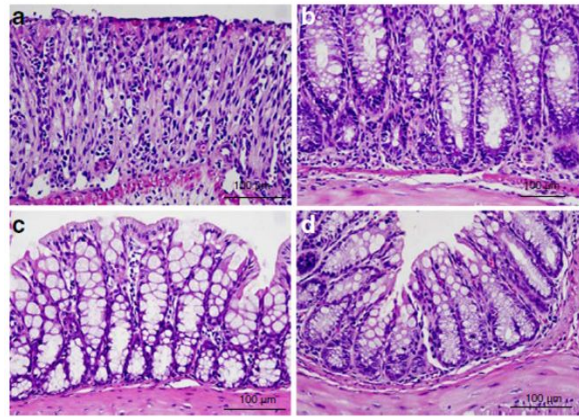


図 2. 大腸の病理組織学的所見 (HE 染色) a DSS + 生食, b DSS + ETS-GS, c ETS-GS, e 生食

さらに IL-6, KC といった炎症性サイトカインの抑制作用、抗炎症性サイトカインである IL-10 の増加作用があることを発見した (Int J Colorectal Dis., 2012 in press) (図 3)。

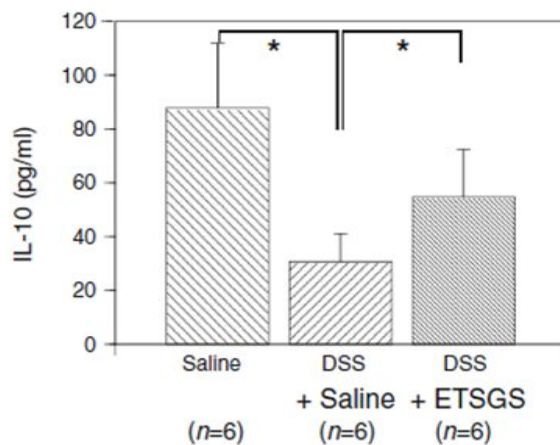


図 3 血清 interleukin-10 濃度 \*P<0.05

特筆すべきは、ETS-GS 投与による DSS 誘導性大腸炎の改善効果が、大腸炎誘導前の投与においてではなく、大腸炎が完全に完成された後の投与でしかも大腸炎誘導薬を継続中の状態でも速やかに発揮されたことである。このことは、重症潰瘍性大腸炎の急性期善すかもしれないことを示唆する。

ETS-GS はこのほか腹膜炎改善効果、虚血性再還流障害、肺虚血再還流障害の改善効果 (Koga et al., Inflammation., Koga et al., J Surg Res., 2012; Hagiwara et al., J Surg Res., 2011) が当院におけるわれわれの研究チームが報告している。

これらの効果は大量出血や腹膜炎をきたす潰瘍性大腸炎治療においても有用であるた

め、ぜひとも臨床応用を目指して更なる詳細な機序検討を行いたい。

## 2. 研究の目的

潰瘍性大腸炎は近年わが国を含めた世界中で増加しつつある原因不明の難病である。酸化ストレスはさまざまな疾患の病態形成に深く関わるとされ、なかでも潰瘍性大腸炎においては、その増悪に深く関わると報告されている。そのためわれわれは抗酸化剤に注目し、新規抗酸化剤 ETS-GS を開発した。

ETS-GS を発症後の潰瘍性大腸炎の動物モデルに投与したところ、これを劇的に改善させ、抗炎症サイトカインの増加、炎症性サイトカインを抑制したため、今後はその機序を詳細に検討し臨床応用を目指したい。

## 3. 研究の方法

ETS-GS はわれわれの研究において強い抗酸化作用を有することが明らかとなっている。

まず今回の大腸炎改善効果が抗酸化作用によるものであるのかを検討し、酸化ストレスのコントロールが直接的な病勢のコントロールにつながるかどうかを評価する。同時に、臨床応用を目標に ETS-GS の長期投与による安全性を検討する。

さらに抗酸化剤が免疫担当細胞、各種サイトカインや大腸粘膜表面の糖鎖、リン酸化タンパクに及ぼす影響を調べることにより、ETS-GS の作用機序を明らかにしたい。

## 4. 研究成果

これまでの研究の結果にて、KC をはじめとするケモカインが、ETS-GS の投与により減少し、大腸炎改善効果の機序解明に重要な役割を担うファクターとして考えられた。その為我々は、単球や好塩基球における活性酸素や化学伝達物質の放出を更新するケモカインである MCP-1 に着目した。

その結果 MCP-1 は、DSS 誘導大腸炎モデルマウスの血清中で低下し、ETS-GS の投与によりさらに有意な低下を認めたため、ETS-GS はこれまでの研究で明らかとされていた KC に加え、血清 MCP-1 の抑制効果を有することが明らかになった。

さらに我々はマウス血清中の IL-1b を ELISA 法にて測定したところ、DSS 誘導大腸炎モデルマウスの血清中の IL-1b は、正常マウスと比較して ETS-GS 投与群では有意に低下した (正常マウス群 vs. ETS-GS 群;  $186 \pm 37.0$  vs.  $132 \pm 18.1$  pg/ml,  $p=0.0065$ , 各n=6)。さらに DSS 誘導大腸炎マウスにおいても ETS-GS の投与により有意な低下を認め (DSS 群 vs. DSS + ETS-GS 群;  $68.2 \pm 4.5$  vs.  $54.1 \pm 2.9$  pg/ml,  $p=0.0039$ , 各n=6)、ETS-GS 投与は血清 IL-1 の抑制効果を有することが明らかになった。

### 「研究成果の意義、重要性」

ケモカインは、リンパ球の炎症腸管へのマ

イグレーション誘導に関わるとされ、ケモカイン欠損マウスでは DSS による大腸炎の軽減が報告されている。

またケモカイン拮抗薬が DSS 腸炎誘導を抑制することも報告されており、ケモカインは炎症性腸疾患の機序解明において重要であると言える。

MCP-1 は、MCAF (monocyte chemotactic and activating factor) と呼ばれ、単球/マクロファージ、線維芽細胞あるいは血管内皮細胞により産生され、リンパ球 (主として単球) に対して作用する。単球に対する走化性の亢進、ライソゾーム酵素や活性酸素の放出亢進、IL-1 および IL-6 の産生誘導など、単球を活性化するほか、好塩基球による化学伝達物質の遊離促進、T 細胞走化性活性を有する。

さらに、IL-1 にも発熱や急性期タンパク質の産生誘導、リンパ球の活性化などの炎症反応を惹起する効果がある。

今回の結果は ETS-GS が全身の MCP-1 によって産生を促される IL-1 濃度に影響を及ぼすものであり、ETS-GS の炎症性腸疾患抑制効果はケモカイン抑制とそれに関連の深い炎症性サイトカイン抑制が関わることが示唆された。その為、新たな炎症性疾患治療ターゲットとなり得るものと考えられ、我々は、更なる解析を進めていきたいと考えている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

當寺ヶ盛 学 (TOUJIGAMORI, Manabu)  
大分大学・医学部・病院特任助教  
研究者番号：40423701

### (2)研究分担者

猪股 雅史 (INOMATA, Masafumi)  
大分大学・医学部・教授  
研究者番号：60315330

白石 憲男 (SHIRAIISHI, Norio)  
大分大学・医学部・教授  
研究者番号：20271132

衛藤 剛 (ETOH, Tsuyoshi)  
大分大学・医学部・講師  
研究者番号：00404369

岩下 幸雄 (IWASHITA, Yukio)  
大分大学・医学部・講師  
研究者番号：60534203

平塚 孝宏 (HIRATSUKA, Takahiro)  
大分大学・医学部・助教  
研究者番号：20600886