

気道炎症および気道粘液の産生亢進に対するグリチルリチンの抑制作用と

その分子薬理学的特性に関する研究

分子機能薬学専攻 創薬化学講座 薬物活性学分野 西本 裕樹

呼吸器は常に外気に曝されているため、空気中のウイルスや細菌への感染あるいはアレルギーなどの侵入が原因となって炎症を生じやすい。呼吸器に炎症を生じると、咳、痰、発熱、胸痛および呼吸困難などの症状を呈する。これが長期化あるいは重篤化すると QOL を著しく低下するだけでなく、呼吸機能の深刻な障害ともなり、積極的な治療が必要となる。重篤な気道炎症を呈した患者には、抗生物質、ステロイド性抗炎症薬、気管支拡張薬、去痰薬および鎮咳薬などの薬物による治療が行われている。しかし、現行の治療法は万能とは言えず、特に炎症に有効とされるステロイドでも抵抗性を示す場合があり、新たな炎症治療の選択肢が求められる。このような観点から、当研究室では甘草の主成分である glycyrrhizin (GL) に注目し、気道炎症への応用の可能性を検討してきた。既に、GL が炎症の形成に重要な転写因子 NF- κ B の活性を阻害することや、亜硫酸ガス曝露により作製した亜急性気道炎症のラットでもステロイド様の抗炎症作用を示すことが分かっている。一方、炎症に伴い生じる気道粘液の過剰産生は、粘稠な痰の原因となり、呼吸器疾患の病態の重篤さと密接な関係にある。粘液産生に対してもステロイドは抑制作用を示し、ステロイドの重要な作用の一つと言えるが、GL の粘液産生に対する作用についてはこれまで検討されていない。そこで本研究では、GL の気道疾患治療薬としての作用特性をさらに明確にするため、まず、この粘液の産生に対する作用を調べた。さらに、GL により発現量が増加する遺伝子をマイクロアレイ解析法を用いてステロイド薬と比較し、両薬物の遺伝子発現調節作用の特性を比較した。以下に本研究に得られた主な知見を要約する。

まず、マウスの気管内に LPS を投与し誘発した粘液産生に対する GL の作用を調べた。LPS 投与後7日目に気道上皮で AB-PAS 染色および気道粘液の主成分 Muc5ac の抗体で染色される杯細胞の過形成が認められたが、GL (15~135 mg/kg, s.c.) は杯細胞数を有意に減少させた。また、LPS による Muc5ac mRNA の発現亢進も、GL は著明に抑制した。一方、GL は、気道粘液の産生亢進に先行して認められた好中球の浸潤および TNF- α , KC 等の炎症性サイトカインの mRNA 発現を control と同程度まで抑制した。本実験の成績により、GL の抗炎症作用が検証されるとともに、GL が粘液産生も抑制する可能性が示された。

次に、マウスに IL-4 を気管内投与して誘発した粘液産生亢進に対する GL の作用を調べた。IL-4 は投与後 24 時間で気道上皮での杯細胞の過形成および Muc5ac の発現を亢進し

たが、白血球の浸潤など炎症反応を生じなかった。本モデルで GL の作用を調べると、GL (15~135 mg/kg, s.c.) は杯細胞の形成および Muc5ac mRNA 発現の亢進のどちらも、control とほぼ同程度まで抑制し、本作用は対照薬として用いた dexamethasone (DEX, 1 mg/kg, s.c.) の作用よりもむしろ強力であった。本実験の成績により、GL が抗炎症に依存することなく、気道粘液の産生を直接抑制する作用を持つ可能性が考えられた。

さらに、気道上皮細胞株 NCI-H292 細胞を用いた *in vitro* の実験系で、MUC5AC 発現に対する GL の作用を調べた。本細胞での MUC5AC mRNA 発現は TGF- α を始めとした EGF receptor/ERK シグナルを活性化する種々の刺激および cAMP/PKA を活性化させる刺激によって亢進されたが、GL (1 mM) はこれらの刺激による MUC5AC 発現亢進を著明に抑制した。また、GL (1 mM) は、TGF- α による MUC5AC プロモーターの活性化も抑制し、GL が MUC5AC の転写阻害を介して粘液産生を抑制すると考えられた。しかし、GL (1 mM) は従来、本プロモーターの活性化に関わると報告されている転写因子 AP-1, Sp1 および CREB の活性には影響せず、GL による MUC5AC の転写抑制作用がこれらの転写因子に非依存的であると推定された。

最後に LPS で誘発したマウスの気道炎症モデルで、種々の遺伝子発現に対する GL (135 mg/kg, s.c.) および DEX (1 mg/kg, s.c.) の作用をマイクロアレイ法により網羅的に調べた。LPS 投与後 3 時間および 24 時間で、炎症および免疫に関わる遺伝子はそれぞれ 236 および 391 種が発現亢進したが、これらのうち DEX は 3 時間で 116 種 (49.2%) , 24 時間で 69 種 (17.6%) の遺伝子の発現を抑制した。一方、GL は 3 時間で 82 種 (34.7%) , 24 時間で 239 種 (61.2%) を抑制し、DEX が炎症の比較的早い反応を抑制するのに対して GL は比較的遅い反応を抑制することが分かった。また、クラスタリング解析の結果でも、両薬物による遺伝子発現パターンはほとんど一致せず、気道炎症および粘液産生に対する作用の類似性にも関わらず、両薬物の遺伝子発現調節作用の特性は異なると考えられた。また、GL 感受性の遺伝子には IFN- γ 関連の遺伝子が多く含まれていた。そこで IFN- γ 依存性の mRNA 発現に対する GL の作用を *in vitro* 実験系で検証したが、GL (1 mM) は GBP2 を強く抑制し、GL が IFN- γ 依存的な遺伝子発現にも一部抑制作用を示すことが分かった。

以上より、GL は粘液産生を遺伝子発現レベルで抑制し、ステロイドと同様に炎症のみならず粘液の制御に有効である可能性が示唆された。また、GL による遺伝子発現調節作用はステロイドとは一致せず、GL がステロイドとは異なる機序を介して生じることが裏付けられた。本研究は、GL が症性呼吸器疾患治療の選択肢を広げる薬物となる可能性をさらに深める重要な基礎データである。