



図2 非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) による皮脂産生促進の分子機構

ることが判明した。さらに、15d-PGJ<sub>2</sub>を処理した脂腺細胞では TG 合成酵素活性の促進とともに細胞内 TG 量の増加が観察された。

#### 【考察】

ハムスター脂腺細胞において、COX-2 に対し阻害作用を示す非ステロイド性抗炎症薬は皮脂産生を促進することが示唆された。また、これら薬剤により特異的な PGJ<sub>2</sub> 産生の促進とともに細胞内 TG 量が増加したことから、① PGJ<sub>2</sub> が内因性の皮脂産生促進因子であること、②ハムスター脂腺細胞には COX-2 の活性抑制に連動して活性化する細胞特異的な PGJ<sub>2</sub> 産生経路が存在することが示唆された (図 2)。

#### 【参考文献】

- 1) Sato, T., Imai, N., Akimoto, N., Sakiguchi, T., Kitamura, K., and Ito, A. Epidermal growth factor and 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D3 suppress lipogenesis in hamster sebaceous gland cells *in vitro*. *J. Invest. Dermatol.* 117, 965-970, 2001.
- 2) Akimoto, N., Sato, T., Sakiguchi, T., Kitamura, K., Y. Kohno, and Ito, A. Cell proliferation and lipid formation in hamster sebaceous gland cells. *Dermatology* 204, 118-123, 2002.

#### (8) 5-HT<sub>1A</sub> 受容体の新しい機能

##### —ストレス刺激の認知適応機構との関連性—

○辻 稔、武田弘志、松宮輝彦

(東京医大・薬理学講座 (難病治療研究センター、創薬部門))

本研究では、5-HT<sub>1A</sub> 受容体の活性化により、ストレス刺激に対する情動的抵抗性が形成されるとともに、ストレス刺激の認知学習機能が亢進することを明らかにした。これらの知見より、生体のストレス刺激に対する恒常性維持機能において、5-HT<sub>1A</sub> 受容体が重要な役割を担っていることが示唆される。

#### (9) 虚血再灌流による腸管粘膜透過性亢進とバクテリアトランスロケーション

○富田幹雄、柳樂眞友子、林 正弘  
(東京薬大・薬物動態制御学教室)

#### 【目的】

20 世紀に生まれた細胞移植、組織移植、臓器置換といった概念は、政府ミレニアム再生医療として今世紀最先端医療から普及医療へと導かれる可能性を秘め、この領域における Drug Delivery System (DDS) の重要性は極めて大きい。演者らは生体部分小腸移植を念頭に免疫抑制剤の吸収動態制御因子 P-糖蛋白質 (P-gp) の機能および発現変動を検討し、移植時問題となる虚血再灌流障害の克服の可能性を DDS の立場から探っている。

我が国でも超高齢化社会の到来に対応し、更なる未来型医療の実現が望まれている。その一つに、「故障した車の部品を交換する」ように自己修復能力の限界を超えた慢性的機能不全臓器を健常臓器に取り替える医療、すなわち移植医療が挙げられ、臓器移植法改正による脳死移植実施や人工臓器・再生医工学の研究などにより 21 世紀型医療として進歩の途にある。しかしながら心臓、肝臓などの脳死移植は脳死を個体死とするか否かという倫理的障壁や行政上の問題等克服すべき社会的問題が多く、人工臓器も生体機能代替性、生体適合性といった問題を抱えている。また胚性幹細胞 (ES 細胞) を用いた再生医工学は、無限増殖能というある種のガンの性質を持つ ES 細胞そのものの安全性の問題や、多数のヒト胚を使用するため倫理的な重要問題が数多く残されている。これに対して小腸は部分生体移植が可能な臓器であるため、近年生体小腸移植が実施され注目を集めている。過去には重症患者に対する最終手段としての最先端医療であった臓器移植医療も、新規免疫抑制剤の開発により最大の課題であった臓器拒絶を克服し始め、今や施術されるたびに報道されるようなことはなくなった。また臓器保存技術、手術手技自体の向上により、患者の生存成績を

中心に評価した場合の移植後成績も確実に伸びている。しかしながら移植医療が普及医療と呼べるまでに発展しないのは、拒絶反応とは別に未だ解決されていない課題を抱えているからである。近年その一つに、施術時の「血流の停止とその後の再開」という、いわゆる虚血再灌流による障害が移植医療を脅かす重大な問題として認識されつつある。移植時の虚血は施術されるレシピエントのみならず、移植されるドナー組織も、ドナー体内より切除されてからレシピエントに移植されるまでの時間、虚血状態にある。よって移植手術はレシピエントとドナーの二重の虚血を抱えることになり、臓器保存の観点からも移植医療における虚血再灌流障害克服は重大な課題である。特に消化管上皮細胞は外界と体内との境界線でもあることから、生体にとって好ましくない異物の体内侵入に対して極めて精巧な防御システムを敷いている。しかしながら消化管の虚血再灌流による膜バリアー機能の低下がバクテリアトランスロケーションを引き起こし、結果として多臓器不全を誘発し死に至る場合がある。

このように虚血再灌流障害は小腸移植そのものを根底から否定しかねず、「移植」を内科的治療の限界を超える21世紀の医療と位置づけ、最先端医療から普及医療へと発展させるためには拒絶反応に加えて虚血再灌流障害の克服が求められる。

これまでに虚血再灌流障害は *in vivo* 実験の成果からのみ評価されてきた。しかしながら、消化管管腔側から血液側への物質移行過程は粘膜上皮細胞と血管内皮細胞の2つのバリアーによって制限され複雑であるためその原因究明には至っておらず、虚血再灌流障害の機構解明には個々のバリアー機能を詳細に調査することが必須である。

まず本研究では、異物の体内侵入に於いての最初の関門である粘膜上皮細胞に焦点を置き、消化管粘膜バリアー機能の変化を詳細に調査した。

#### 【方法】

ヒト大腸ガン由来の Caco-2 を常法に従い単層培養した。この Caco-2 単層膜を脂質過酸化誘導剤 *tertiary-Butyl hydroperoxide* (*t*-BuOOH) を含む低酸素条件下にて60分間処理しその後酸素の再供給を行い、酸素再供給による膜構造変化に及ぼす影響を検討した。膜

構造変化とは Tight Junction (TJ) 開口を意味し、その指標となる経上皮膜間抵抗 (TEER) 値を電気生理学的解析から算出した。障害因子の同定に GSH、N-acetylcystein (NAC)、細胞膜透過性のスーパーオキシドアニオンのスカベンジャーである Tiron、鉄イオンのキレーターである Deferoxamine (DFO) を用いた。

#### 【結果・考察】

まず、血管内皮細胞ではなく腸管上皮細胞のバリアー機能に焦点を当てるために、ヒト大腸ガン由来の Caco-2 を用いて、*t*-BuOOH による脂質過酸化誘導後の酸素再供給によって TJ 開口が引き起こされるという虚血再灌流障害の *in vitro* モデルを構築した。次に 0.5 mM の *t*-BuOOH により引き起こされる TJ 開口、すなわち TEER 低下に関与する因子の同定を試みた。GSH、NAC、Tiron、DFO はいずれも 0.5 mM の *t*-BuOOH による脂質過酸化誘導後の酸素再供給によって引き起こされる TEER 低下を濃度依存的に抑制した。

以上の結果をまとめると、0.5 mM の *t*-BuOOH による脂質過酸化誘導後の酸素再供給により引き起こされる TJ 開口という膜構造変化には、細胞内でのスーパーオキシドアニオンの生成と鉄イオンの遊離が寄与あるいは重要な役割を演じていることが示唆された。

#### 【研究成果】

1. M. Tomita, M. Nagira, M. Hayashi, *et al.*, Clarification of the mechanism of structural change induced by reoxygenation following the induction of lipid peroxidation in Caco-2 cell monolayers. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **17**(1): 83-91 (2002).
2. M. Tomita, M. Nagira, M. Hayashi, *et al.*, Assessment using Caco-2 cell monolayers for barrier dysfunction of epithelial cells during ischemia / reperfusion. *Organ Biology*, **7**(4): 87-94 (2000).
3. M. Tomita, *et al.*, Mesenteric dysfunction after cardiopulmonary bypass: Role of complement C5a. *Annals of Thoracic Surgery*, **69**(3): 799-807 (2000).