

ペルオキシダーゼによる NSAIDs の代謝：消化管粘膜障害との関連性

村岡早苗,* 三浦俊明

Metabolism of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs by Peroxidase: Implication for Gastrointestinal Mucosal Lesions

Sanae MURAOKA* and Toshiaki MIURA

Hokkaido Pharmaceutical University School of Pharmacy, 7-1 Katsuraoka-cho, Otaru City 047-0264, Japan

(Received November 14, 2006; Accepted January 26, 2007)

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are widely used to treat inflammatory diseases including rheumatoid arthritis and gout. The anti-inflammatory action of NSAIDs is due to the inhibition of prostaglandin synthesis by preventing cyclooxygenase (COX) activity of prostaglandin H synthase (PGS). However, administration of NSAIDs causes gastrointestinal mucosal lesions and a decrease of granulocytes as side effects. PGS catalyzes two distinct enzyme reactions: (1) bis-dioxygenation of arachidonic acid catalyzed by COX activity of PGS to form PGG₂; and (2) reduction of the hydroperoxide group in PGG₂ by PGS hydroperoxidase. Most NSAID are oxidized by peroxidases to produce NSAID radicals that damage biological components such as lipids and enzymes. Indomethacin, phenylbutazone, and piroxicam are more toxic under aerobic conditions than anaerobic conditions during the interaction with peroxidase. We discuss the contribution of peroxidases in the formation of gastrointestinal mucosal lesions induced by NSAIDs.

Key words—non-steroidal anti-inflammatory drugs; peroxidase; cyclooxygenase; non-steroidal anti-inflammatory drugs radical; gastrointestinal mucosal lesions

1. はじめに

非ステロイド性抗炎症剤 (NSAIDs) は、慢性関節リウマチを始めとした種々の炎症性疾患に、解熱・鎮痛・抗炎症薬として広く用いられている。一方、NSAIDs の服用に伴って、消化管粘膜障害や顆粒球減少などの副作用も広く認められている。大規模な疫学調査を実施した日本リュウマチ財団の成績によれば、NSAIDs を長期に服用しているリウマチ患者の上部消化管病変の総有病率は、62.2%にも達しているという。¹⁾

NSAIDs の鎮痛、解熱、抗炎症作用はいずれもプロスタグランジン合成酵素 (PGS) のシクロオキシゲナーゼ (COX) 活性阻害によるプロスタグランジン (PG) の生合成の抑制によっている。炎症時における PG の作用によって以下の症状が起こってくる。(1) 知覚神経終末において痛みの閾値を下げるので、生体内のブラジキニンで痛みが起こる、(2) 脳の視床下部にある体温調節中枢に PGE₂ が作

用して体温調節中枢のセットポイントが上昇する、(3) PG は細動脈を拡張して毛細血管の血流量を増大して浮腫を引き起こす。(1)–(3) の PG に関連した炎症症状は、いずれも NSAIDs の服用による PG 合成阻害を介して抑制される。

PGS は COX とペルオキシダーゼ (PGHS) という 2 つの酵素活性を持っており、これらの活性にはいずれも cofactor としてヘムを必要としているが、抗炎症剤は COX の反応を阻害するもののペルオキシダーゼによる反応を阻害しない。^{2,3)}

COX とペルオキシダーゼの反応は PGS の異なった場所で行われ、互いに独立した触媒行程であるが、2 つの活性の間には機構的な関連性が認められる。その理由は、シクロオキシゲナーゼ活性が、ヒドロペルオキシド又はアルキルペルオキシド (ROOH) を必要としているからである。⁴⁾ Raf らは COX の反応機構として Fig. 1 に示す機構を提唱している。^{5,6)} すなわち、ペルオキシダーゼ反応の中心にあるヘム鉄 (Fe³⁺) と ROOH との相互作用によって、オキソフェリル (Fe⁴⁺=O) とチロシンラジ

北海道薬科大学 (〒047-0264 小樽市桂岡町 7-1)

*e-mail: muraokas@hokuyakudai.ac.jp

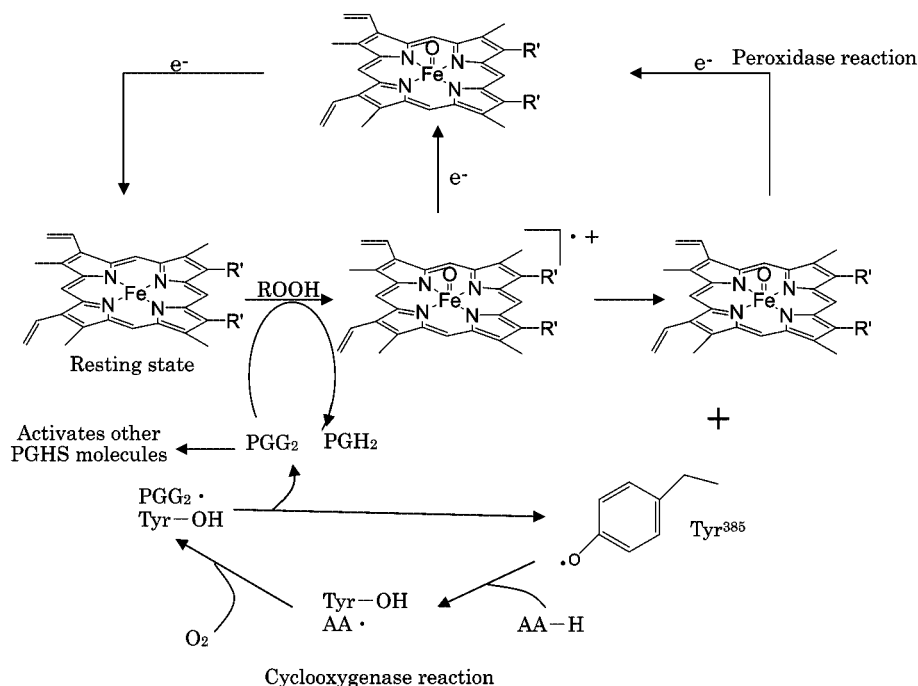


Fig. 1. The Peroxidase Reaction Generates Tyrosyl Radicals Essential for the Cyclooxygenase Reaction²⁾

This process involves two intermediates in which one oxidizing equivalent is stored as a ferryl heme and a second oxidizing equivalent is located on either the porphyrin in Intermediate I or tyrosine 385 Intermediate II. The Fe⁴⁺-oxo species is reduced back to the ferric resting state by reducing cosubstrates (NSAIDs). ROOH: alkylhydroperoxide, Tyr: tyrosine, AA: arachidonic acid, PGG₂: prostaglandin G₂.

カルが生成される。チロシンラジカルは、ヘム鉄とは別の部位でシクロオキシゲナーゼ反応を惹起させる。

ペルオキシダーゼ反応はヘムで起る。PGSの立体構造においてヘムの周辺には広い空間があって、容易に溶媒と接触できるようになっている。²⁾このことが、NSAIDsの化学構造の多様性に反映されている。シクロオキシゲナーゼの活性中心は阻害剤や基質を用いた構造解析からCOX1ではTyr³⁸⁵、COX2ではTyr³⁷¹であることが明らかとなっている。⁷⁻⁹⁾Tyr³⁸⁵はヘムとアラキドン酸(AA)の結合部位の間であってチロシンラジカルの前駆体となっており、シクロオキシゲナーゼ反応とペルオキシダーゼ反応の両方に参与している。

Figure 1に示すように、ヘム鉄とペルオキシドとの1回の反応でシクロオキシゲナーゼの代謝回転が引き起こされ、チロシンラジカルはシクロオキシゲナーゼの触媒サイクルが回転するごとに再生されることになる。したがって反応の進行に伴って、PGG₂ヒドロペルオキシドは蓄積され、拡散されて新たなPGSを活性化し、シクロオキシゲナーゼ反応が起こってくる。こうしてみると、シクロオキシ

ゲナーゼの触媒サイクルは、一度起こってしまうと持続的に起こっていくことになるようにみえる。しかしながら、生成されたチロシンラジカルは、再生されるとPGSの自己不活性化を引き起こして消失してしまうことがあるので、シクロオキシゲナーゼの触媒サイクルはかならずしも持続しない。^{3,10,11)}

静止状態にあるとき、PGHSのヘムは3価の高スピン状態にある。このPGHSの3価のヘムはヒドロペルオキシドと反応してIntermediate Iを生成する。これはスペクトルの性質が西洋わさびペルオキシダーゼ(horseradish peroxidase; HRP) compound Iと酷似している。HRPにおいてこのIntermediate Iはオキソフェリル(Fe⁴⁺=O)とポルフィリンカチオンラジカル(Por⁺)からなる。Por⁺の近くにあるTyr³⁸⁵から1電子の移動が起こって、Intermediate IはIntermediate IIとなる。そこで形成されたチロシンラジカルがシクロオキシゲナーゼ触媒サイクルを開始する(Fig. 1)。

すべてのNSAIDsはCOXの活性部位におけるアラキドン酸の酸化を阻害する。NSAIDsはCOXに対する阻害様式によって3つの型に分類することができる。^{3,12-15)}

(a) 可逆的に COX に結合して、PG 合成を阻害する (プロピオン酸系：イブプロフェン等)。

(b) 非可逆的に COX を阻害するものでアスピリンのみがこのタイプに属する。

(c) 時間に依存して可逆的に COX を阻害する (大多数の NSAIDs)。

このうち(c)に分類された NSAIDs はペルオキシダーゼによって NSAIDs ラジカルとなり、種々の生体成分を障害する。本稿において、ペルオキシダーゼによる NSAIDs の代謝について筆者らの研究を中心に述べ、消化管粘膜障害との関連性について考察する。

2. ペルオキシダーゼによる NSAIDs の酸化

炎症の過程ではフリーラジカルが生理学的に重要な役割を果たしており、中でも顆粒球の活性化によってスーパーオキシド (O_2^-) やヒドロキシラジカル ($HO\cdot$) が発生して、それらが組織障害を引き起こしていると考えられてきた。¹⁶⁾ NSAIDs が酸素

ラジカルのうち特に $HO\cdot$ の消去剤として作用している可能性について多くの論文がある。^{17,18)} しかしながら、他の薬剤に比べて NSAIDs が特に優れた消去能を持っている訳ではない。

酸素ラジカル生成に際して大きな役割をするのは H_2O_2 である。過酸化水素はそれだけで広く組織を酸化して、種々の障害を引き起こす。Parij と Neve¹⁹⁾ は NSAIDs がペルオキシダーゼの基質となって過酸化水素を除去し、そのことが抗炎症作用に寄与しているのではないかと考えた。

Table 1 には、ペルオキシダーゼによって酸化される NSAIDs と化学構造の関係を示す。これらの NSAIDs 中でイブプロフェンを始めとするプロピオン酸系は、ペルオキシダーゼの基質とはならない。アスピリンは非可逆的に PGS を阻害する唯一の NSAIDs である。^{20,21)} アスピリンでは、ペルオキシダーゼで酸化されるフェノール性 OH 基がアセチル化されているためにペルオキシダーゼとは反応し

Table 1. Relationship between Chemical Structure of NSAIDs and the Reactivity with Peroxidase

大分類	中分類	小分類	基本構造分類	薬品名	ペルオキシダーゼとの反応性
酸性活性体	アリールカルボン酸系	カルボン酸系	サリチル酸系	サリチル酸	○ ²⁶⁾
				サルサレート	○ ²⁶⁾
				スルファサラジン	○ ^{a)}
				アスピリン	× ²⁶⁾
		アントラニル系	メフェナム酸	○ ²⁴⁾	
				フルフェナム酸	○ ²⁴⁾
		酢酸系	フェニル酢酸系	ジクロフェナク	○ ³⁴⁾
			インドール系	インドメタシン	○ ²⁷⁾
			ヘテロアリール酸系	トルメチン	× ^{a)}
			ピラノ酢酸系	エトドラク	○ ^{a)}
		プロピオン酸系	フェニール系	イブプロフェン	× ^{a)}
				ケトプロフェン	× ^{a)}
				ナフタレン系	ナプロキセン
		ピラゾロン系	フェニルブタゾン	○ ²⁸⁾	
アミノピリン	○ ³¹⁾				
エノール酸系	オキシカム系	ピロキシカム	○ ²⁵⁾		
		イソキシカム	○ ²⁵⁾		
		テノキシカム	○ ²⁵⁾		
		メロキシカム	○ ²⁵⁾		
パラアミノフェノール系	アセトアミノフェン	○ ³²⁾			
塩基性活性体	ピリミジニールピラゾール系	メピリゾール	× ^{a)}		

a) unpublished data.

ない。しかしながら、服用時には容易に加水分解されてサリチル酸となるので、その時点ではペルオキシダーゼによって酸化されることになる。またヘテロアリル酸系のトルメチン、塩基性 NSAIDs であるメピリゾールもペルオキシダーゼによってほとんど酸化されることはなかった。

ペルオキシダーゼ反応の最初のステップは、酸化型酵素（ヘム鉄が Fe^{3+} ）と過酸化水素が反応して起こる O-O 結合の不均衡開裂（heterolysis）である。この結果、一方の酸素原子は水となって遊離し、他方の酸素原子はヘム鉄に結合して残る。²² この酸素原子には 2 等量の電子が渡る。1 等量は鉄原子から、残りの 1 等量はポルフィリンが電子供与体となっている。したがって、Fig. 2 に示すように、HRP 溶液中に等量の H_2O_2 を添加することで生成される Compound I はオキソフェリル ($\text{Fe}^{4+}=\text{O}$) の鉄中心と、ポルフィリンカチオンラジカルとからなる。Compound I に対して NSAIDs は還元剤として働き、Compound II ($\text{Fe}^{3+}=\text{O}$) となる。Compound II はさらに NSAIDs によって還元され酸化型酵素に戻る。すなわち、NSAIDs が存在すると、酸化型酵素 (Fe^{3+}) \rightarrow Compound I \rightarrow Compound II \rightarrow 酸化型酵素 (Fe^{3+}) と循環反応が起こってしまうために、シクロオキシゲナーゼ反応を惹起するためのチロシンラジカルが生成されてこない。そのため PG 合成は阻止されることになる。この機構はペルオキシダーゼの還元剤が、PGS の自己不活性化を強く阻止する機構と同じものと考えられる。^{10,11,23} 一方、NSAIDs は Compound I 又は Compound II によって酸化されて NSAIDs ラジカルとなり、生体成分の障害を引き起こす。

3. NSAIDs ラジカル

ペルオキシダーゼによって生成される典型的な

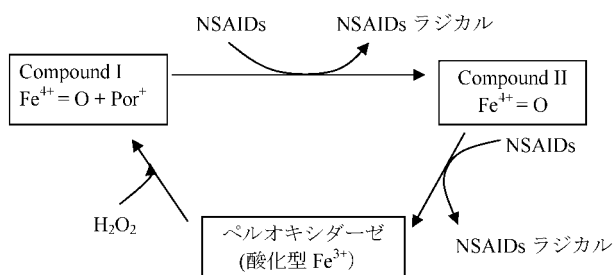


Fig. 2. Generation of NSAID Radicals by Peroxidase

NSAIDs ラジカルの化学構造を Fig. 3 に示す。多くの NSAIDs では、ペルオキシダーゼとの反応系にスピントラップ剤である DMPO (5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide) と GSH を共存させておくことで、ESR シグナルを検出することができる。²⁴⁻²⁶ この場合には、NSAIDs ラジカルが GSH と反応して glutathionyl radical となりそれが DMPO にトラップされて ESR シグナルとなって検出される。一方、インドメタシン²⁷とフェニルブタゾン²⁸の場合は、ラジカルはスピントラップ剤である MNP (2-methyl-2-nitrosopropane) によって検出された。

Table 2 には NSAIDs ラジカルによって惹起される酵素の不活性化と脂質過酸化を示す。NSAIDs ラジカルはいずれも、CK (creatine kinase), ADH (alcohol dehydrogenase) などの SH 酵素の不活性化を引き起こすが、好氣的条件と嫌氣的条件の違いで著しい差が現れることがある。インドメタシン²⁷やピロキシカム²⁵を用いた場合には、好氣的条件において CK や ADH はより速やかに不活性化を受ける。

インドメタシンの場合には、好氣的条件下で HRP によって速やかに酸化され、その際著しいスペクトルの変化が観察されて反応溶液は黄色となる。この溶液は 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンで深青色となるので、インドール核の酢酸基が脱炭酸してペルオキシラジカルとなっているものと考えられる。

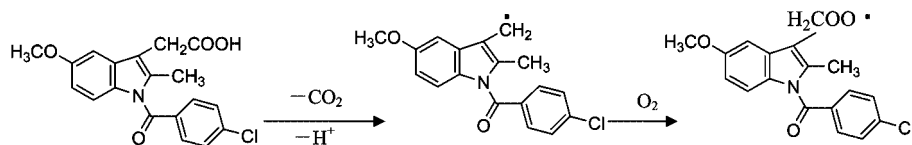
ピロキシカムの場合には、C3 位に酸素が添加してペルオキシラジカルとなり、それが主として酵素の不活性化を引き起こしているものと考えられる。

一方、フェニルブタゾンの場合では、CK に対しては好氣的、嫌氣的条件下で著しい変化は認められなかったが、 α_1 -アンチプロテアーゼに対して、好氣的条件下でのみ不活性化が惹起され、この場合にはフェニルブタゾンの過酸化物及びフェニルブタゾンペルオキシラジカルが主として α_1 -アンチプロテアーゼの不活性化を引き起こしていた。²⁹

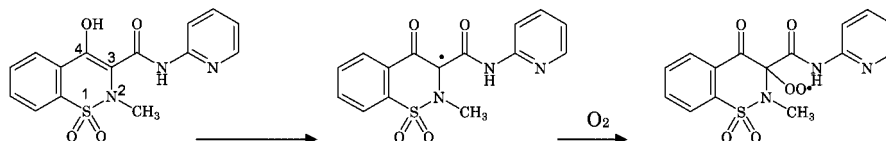
アミノピリン,^{30,31} アセトアミノフェン,^{32,33} ジクロフェナク³⁴では以前よりペルオキシダーゼによってフリーラジカルとなることが示されている。

サリチル酸の場合には、好氣的条件下では、むしろ LDH (lactate dehydrogenase) の不活性化は抑制された。²⁶ ペルオキシダーゼによるサリチル酸の酸化過程では、410 nm 付近に吸収極大を示す蛍光の

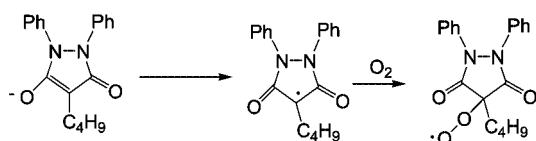
(1) Indomethacin radical



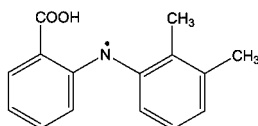
(2) Piroxicam radical



butazone radical



(4) Mefenamic acid radical



(5) Salicylic acid radical

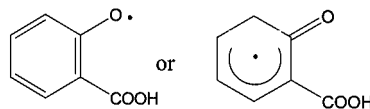


Fig. 3. Typical Representative NSAID Radicals Generated by Peroxidase

Table 2. Biological Damage Induced by NSAID Radicals

薬物名	不活性化される酵素	脂質過酸化
サリチル酸 ²⁶⁾	LDH, ChE, GAPDH	起こらない
メフェナム酸 ²⁴⁾	CK, GAPDH	起こらない
インドメタシン ^{27,44)}	CK, ADH, GAPDH	起こる
フェニルブタゾン ^{28,45)}	CK, ADH, GAPDH	起こる
ピロキシカム ²⁵⁾	CK, GAPDH	起こらない
アセトアミノフェン ³⁸⁾	—	起こる
アミノピリン ³⁹⁾	—	起こる

経時的な増加が起こってくる。この蛍光物質はタンパク質に強く吸着するので、そのことも酵素の不活性化に寄与していると考えられる。ペルオキシダーゼによってできた NSAIDs の酸化体が吸着を示す

性質はサリチル酸の場合でのみ観察された。フェノール性物質が、HRP によって酸化されるときには、ポリマーができることが報告されているので、³⁵⁻³⁷⁾ サリチル酸ポリマーが吸着の性質を示していると考えられる。このように NSAIDs ラジカル間において生体成分との反応性について相違が認められる。

4. 脂質過酸化

NSAIDs による消化管粘膜障害が、投与時に引き起こされる脂質過酸化に起因することを示唆する報告は多い。³⁸⁻⁴⁰⁾ 内藤らは、インドメタシンが胃粘膜を障害する過程で脂質過酸化が起こり、superoxide dismutase (SOD) が胃粘膜障害を抑制することを示している。⁴¹⁻⁴³⁾ ペルオキシダーゼによる

NSAIDsの酸化過程において脂質過酸化は、インドメタシンとフェニルブタゾンの場合でのみ認められた。^{44,45)}しかしながら、これらの薬剤によって惹起される脂質過酸化の機構は明らかに異なっていた。インドメタシンで起こってくる脂質過酸化では、内藤らの報告と同様に、SODが脂質過酸化を阻止したが、フェニルブタゾンによって引き起こされる脂質過酸化にはSODの影響は認められなかった。インドメタシンの場合、ペルオキシダーゼによって生成されたラジカルが反応系中の H_2O_2 と反応して O_2^- を生成し、それが鉄を介して脂質過酸化を惹起していた。一方、フェニルブタゾンの脂質過酸化ではフェニルブタゾンラジカル自身が不飽和脂肪酸から電子を引き抜いて過酸化反応を引き起こした。

5. 消化管粘膜障害

脂質過酸化が、NSAIDsの主な副作用である消化管粘膜の原因になっているとは考え難い。なぜならば、脂質過酸化を引き起こすNSAIDsは限られているが、消化管粘膜障害は脂質過酸化を引き起こさないNSAIDsによっても起こってくるからである。

消化管粘膜障害は確かに、PGの生合成と密接に関係している。⁴⁶⁾しかし、PG合成阻止だけで粘膜障害のすべてが説明できる訳ではない。これまでに述べてきたように、時間依存性で可逆的にCOXを阻害するNSAIDsは、ペルオキシダーゼの基質となって酸化され、NSAIDsラジカルとなる。NSAIDsラジカルはある場合には脂質過酸化を惹起し、多くの酵素活性を阻害して生体成分を障害する。胃粘膜には多くのペルオキシダーゼが含まれており、⁴⁷⁾加えて、消化管には多くのマクロファージが存在している。顆粒球もまた豊富である。これらの細胞には多くのミエロペルオキシダーゼが含まれている。Wallaceらはインドメタシンやナプロキセンで惹起される胃粘膜障害が好中球抗体で防御できることを示し、消化管粘膜障害に顆粒球が深く関与していることを示した。⁴⁸⁾

イブプロフェンを始めとするプロピオン酸系のNSAIDsは可逆的にCOXと結合してPG合成を阻害するが、^{49,50)}ペルオキシダーゼによる代謝を受けないので、服用時にはもっぱらCOX1を阻害してPG合成を阻止する。したがって、PG合成阻止に伴って胃酸分泌の過多、胃腸粘液分泌抑制に起因する粘膜障害が惹起されると考えられる。一方、ペル

オキシダーゼによって代謝を受けるNSAIDsを服用した場合には、胃粘膜中のCOX1阻害もさることながら、消化管中に大量に存在するペルオキシダーゼによる代謝を受けるであろう。すると、それに見合ったNSAIDsラジカルが発生し、粘膜細胞を障害すると考えられる。PG合成抑制に起因する胃酸分泌過多、胃粘液分泌抑制の条件下でNSAIDsラジカルが生成すると、障害の様相は複雑になるが、さらに容易に粘膜細胞は障害されるものと考えられる。

近年ではCOX2だけを阻害するNSAIDsが開発されて、それらは胃粘膜障害を惹起し難いとされている。⁵¹⁾その理由として、COX1は胃に構成要素として恒常的に発現しているのに対してCOX2は炎症時にサイトカインや炎症メディエーターにより誘導されていることが挙げられている。⁵²⁻⁵⁴⁾しかしながら、COX2阻害薬の1つであり、オキシカム系NSAIDsであるメロキシカムは、ペルオキシダーゼによる代謝を受けて、ラジカルとなり種々の酵素を不活性化する。²⁵⁾またVillegasらによって消化管粘膜障害が引き起こされることも報告されている。⁵⁵⁾COX2阻害薬とペルオキシダーゼの関係はさらに検討する必要があるであろう。

REFERENCES

- 1) Tamura N., Hashimoto H., *Kusurino Saiense*, **6**, 62-65, (2000) (in Japanese).
- 2) van der Donk W. A., Tsai A. L., Kulmacz R. J., *Biochemistry*, **41**, 15451-15458 (2002).
- 3) Smith W. L., DeWitt D. L., Garavito R. M., *Annu. Rev. Biochem.*, **69**, 145-182 (2000).
- 4) Marshall P. J., Kulmacz R. J., *Arch. Biochem. Biophys.*, **266**, 162-170 (1988).
- 5) Karthein R., Dietz R., Nastainczyk W., Ruf H. H., *Eur. J. Biochem.*, **171**, 313-320 (1988).
- 6) Dietz R., Nastainczyk W., Ruf H. H., *Eur. J. Biochem.*, **171**, 321-328 (1988).
- 7) Picot D., Loll P. J., Garavito R. M., *Nature*, **367**, 243-249 (1994).
- 8) Malkowski M. G., Ginell S. L., Smith W. L., Garavito R. M., *Science*, **289**, 1933-1937 (2000).
- 9) Kiefer J. R., Pawlitz J. L., Moreland K. T., Stegeman R. A., Hood W. F., Gierse J. K.,

- Stevens A. M., Goodwin D. C., Rowlinson S. W., Marnett L. J., Stallings W. C., Kurumbail R. G., *Nature*, **405**, 97–101 (2000).
- 10) Koshkin V., Dunford H. B., *Biochim. Biophys. Acta.*, **1430**, 341–348 (1999).
- 11) Wu G., Wei C., Kulmacz R. J., Osawa Y., Tsai A. L., *J. Biol. Chem.*, **274**, 9231–9237 (1999).
- 12) Smith W. L., Dewitt D. L., *Adv. Immunol.*, **62**, 167–215 (1996).
- 13) Smith W. L., Garavito R. M., DeWitt D. L., *J. Biol. Chem.*, **271**, 33157–33160 (1996).
- 14) Marnett L. J., Rowlinson S. W., Goodwin D. C., Kalgutkar A. S., Lanzo C. A., *J. Biol. Chem.*, **274**, 22903–22906 (1999).
- 15) DeWitt D. L., *Mol. Pharmacol.*, **55**, 625–631 (1999).
- 16) Greenwald R. A., *Semin. Arthritis Rheum.*, **20**, 219–240 (1991).
- 17) Aruoma O. I., Halliwell B., *Xenobiotica*, **18**, 459–470 (1988).
- 18) Fernandes E., Costa D., Toste S. A., Lima J. L., Reis S., *Free Radic. Biol. Med.*, **37**, 1895–1905 (2004).
- 19) Parij N., Neve J., *Eur. J. Pharmacol.*, **311**, 259–264 (1996).
- 20) DeWitt D. L., el-Harith E. A., Kraemer S. A., Andrews M. J., Yao E. F., Armstrong R. L., Smith W. L., *J. Biol. Chem.*, **265**, 5192–5198 (1990).
- 21) Lecomte M., Laneuville O., Ji C., DeWitt D. L., Smith W. L., *J. Biol. Chem.*, **269**, 13207–13215 (1994).
- 22) Hager L. P., Doubek D. L., Silverstein R. M., Hargis J. H., Martin J. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 4364–4366 (1972).
- 23) Hemler M. E., Lands W. E., *J. Biol. Chem.*, **255**, 6253–6261 (1980).
- 24) Muraoka S., Miura T., *Life Sci.*, **72**, 1897–1907 (2003).
- 25) Muraoka S., Miura T., *Free Radic. Res.*, **38**, 217–223 (2004).
- 26) Muraoka S., Miura T., *Chem. Biol. Interact.*, **151**, 63–70 (2005).
- 27) Miura T., Muraoka S., Fujimoto Y., *Chem. Biol. Interact.*, **14**, 134, 13–25 (2001).
- 28) Miura T., Muraoka S., Fujimoto Y., *Free Radic. Res.*, **34**, 167–175 (2001).
- 29) Muraoka S., Miura T., *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, **99**, 261–266 (2006).
- 30) Griffin B. W., *FEBS Lett.*, **74**, 139–143 (1977).
- 31) Perez-Gilabert M., Sanchez-Ferrer A., Garcia-Carmona F., *Free Radic. Biol. Med.*, **23**, 548–555 (1977).
- 32) Ross D., Albano E., Nilsson U., Moldeus P., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **125**, 109–115 (1984).
- 33) West P. R., Harman L. S., Josephy P. D., Mason R. P., *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 2933–2936 (1984).
- 34) Zuurbier K. W., Bakkenist A. R., Fokkens R. H., Nibbering N. M., Wever R., Muijsers A. O., *Biochem. Pharmacol.*, **40**, 1801–1808 (1990).
- 35) Heinecke J. W., Li W., Daehnke 3rd H. L., Goldstein J. A., *J. Biol. Chem.*, **268**, 4069–4077 (1993).
- 36) McCormick M. L., Gaut J. P., Lin T. S., Britigan B. E., Buettner G. R., Heinecke J. W., *J. Biol. Chem.*, **273**, 32030–32037 (1998).
- 37) Potter D. W., Miller D. W., Hinson J. A., *Mol. Pharmacol.*, **29**, 155–162 (1986).
- 38) Thelen M., Wendel A., *Biochem. Pharmacol.*, **32**, 1701–1706 (1983).
- 39) Renton K. W., Aranda J. V., Eade N. R., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **54**, 838–843 (1976).
- 40) Tanaka J., Yuda Y., *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 716–720 (1996).
- 41) Naito Y., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nishimura S., Yagi N., Kondo M., *Dig. Dis. Sci.*, **40**, 2019–2021 (1995).
- 42) Yoshikawa T., Naito Y., Nakamura S., Nishimura S., Kaneko T., Iinuma S., Takahashi S., Kondo M., Yamasaki K., *Arzneimittelforschung*, **43**, 1327–1330 (1993).
- 43) Yoshikawa T., Naito Y., Kishi A., Tomii T., Kaneko T., Iinuma S., Ichikawa H., Yasuda M., Takahashi S., Kondo M., *Gut*, **34**, 732–737 (1993).
- 44) Miura T., Muraoka S., Fujimoto Y., *Biochem. Pharmacol.*, **63**, 2069–2074 (2002).
- 45) Miura T., Muraoka S., Fujimoto Y., *Life Sci.*, **70**, 2611–2621 (2002).
- 46) Scarpignato C., *Dig. Dis.*, **13**, 9–39 (1995).
- 47) Banerjee R. K., *Biochim. Biophys. Acta*, **1034**, 275–280 (1990).

- 48) Wallace J. L., Keenan C. M., Granger D. N., *Am. J. Physiol.*, **259**, G462–G467 (1990).
- 49) Rome L. H., Lands W. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **72**, 4863–4865 (1975).
- 50) Laneville O., Breuer D. K., Dewitt D. L., Hla T., Funk C. D., Smith W. L., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **271**, 927–934 (1994).
- 51) Buttgerit F., Burmester G. R., Simon L. S., *Am. J. Med.*, **110**, 13S–19S (2001).
- 52) Seibert K., Zhang Y., Leahy K., Hauser S., Masferrer J., Isakson P., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **400A**, 167–170 (1997).
- 53) Harris R. C., McKanna J. A., Akai Y., Jacobson H. R., Dubois R. N., Breyer M. D., *J. Clin. Invest.*, **94**, 2504–2510 (1994).
- 54) Breder C. D., Dewitt D., Kraig R. P., *J. Comp. Neurol.*, **355**, 296–315 (1995).
- 55) Villegas I., Alarcon de la Lastra C., La Casa C., Motilva V., Martin M. J., *Eur. J. Pharmacol.*, **414** (1), 79–86 (2001).