

アジュバント関節炎ラットにおける非ステロイド系抗炎症薬による 胃粘膜傷害性の変化

加藤 伸一

京都薬科大学, 〒607-8414 京都市山科区御陵中内町 5 番地

Changes in Ulcerogenic Response to Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) in Adjuvant Arthritic Rats

Shinichi KATO

Kyoto Pharmaceutical University, Misasagi, Yamashina, Kyoto 607-8414, Japan

(Received July 2, 2001)

Gastroenteropathy is the most common among patients who use non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for the treatment of inflammatory disorders. It is known that rheumatoid arthritic (RA) patients are more susceptible to NSAID-induced gastropathy than other NSAID users. This article reviewed our recent studies concerning the influence of arthritis on gastric mucosal integrity in adjuvant-induced arthritic rats. The gastric mucosal lesions induced by indomethacin, one of conventional NSAIDs, were markedly aggravated in arthritic rats. Likewise, the healing of chronic gastric ulcers induced by thermal cauterization was significantly delayed in arthritic rats. The underlying mechanisms of these phenomena observed in arthritic rats may be attributable to the enhancement of iNOS/NO pathway in the former and the less expression of various growth factors in the ulcerated mucosa, such as basic fibroblast growth factors (bFGF) or insulin-like growth factors (IGF-1) in the latter. In addition, we recently found that cyclooxygenase-2 (COX-2) selective inhibitors, such as rofecoxib or celecoxib, induced apparent gastric lesions in arthritic rats, suggesting that a caution should be paid on the use of COX-2 selective inhibitors in RA patients.

Key words—gastric mucosal lesions; adjuvant arthritis; non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)

はじめに

非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID) は臨床において最も繁用される薬剤の 1 つであるが, 消化管障害をはじめとする副作用を有していることが知られており, その使用法が制限されている。特に NSAIDs を長期間使用する慢性リウマチ性関節炎 (RA) 患者における消化管障害の発生頻度は, 他の NSAID 使用者と比較しても高く, また重篤であることが知られている。¹⁾しかし, このような臨床的背景があるにもかかわらず, NSAIDs による消化管障害と慢性関節炎との関連性に関する基礎研究は少なく, またその機序も不明なままである。

アジュバント誘発関節炎は RA の動物モデルとして広く知られており, 抗リウマチ薬あるいは抗炎症薬の評価に繁用されている。Schkeyerbach & Wedde²⁾ はアジュバント誘発関節炎モデルを用いて, 種々の胃粘膜傷害について正常動物と比較検討

し, 代表的な NSAIDs の 1 つであるアスピリンにより誘起される胃粘膜損傷が関節炎ラットでは有意に増悪していることを報告した。これに対して Rainsford³⁾ は, アスピリンの単回あるいは反復投与により誘起される胃粘膜障害の発生頻度及び程度は正常ラットとアジュバント関節炎ラットの間には何ら差は認められないという全く逆の結果を報告している。このように, 関節炎発症時における NSAIDs による消化管傷害性の変化に関する研究は散見されるものの, 必ずしも一致した見解は得られていないのが現状である。

NSAIDs は消化管に傷害を発生させるだけでなく, 一旦発生した傷害の治癒に対しても悪影響を及ぼすことが知られている。実際, ラットにおいて酢酸により誘起した慢性潰瘍の治癒が, それ単独では傷害を惹起しない低用量のインドメタシンの連続投与により有意に遅延することが報告されている。⁴⁾

しかし、このような慢性潰瘍の治癒反応あるいは NSAIDs の連続投与による治癒遅延が関節炎によって影響を受けるのかについては不明である。

近年、消化管障害などの副作用の少ない抗炎症薬としてシクロオキシゲナーゼ (COX)-2 選択的阻害薬が開発されている。しかし、COX-2 選択的阻害薬の消化管障害性を RA 患者とそれ以外の患者で詳細に比較検討した報告はほとんどなく、また基礎研究レベルにおいても同様の検討は試されていないのが現状である。

本稿では、関節炎モデルとして最も繁用されているアジュバント誘発関節炎ラットを用いた著者の研究を元に、⁵⁻⁷⁾ 従来の非選択的 NSAID による胃粘膜傷害性の変化及び慢性潰瘍の治癒に及ぼす関節炎の影響について概説する。また、COX-2 選択的阻害薬の胃粘膜傷害性についても正常及び関節炎ラットで比較検討した著者の最近の知見を紹介する。⁸⁾

2. インドメタシン誘起胃粘膜損傷に及ぼす影響

Figure 1A と 1B は、フロイト完全アジュバント (FCA) を雄性 Dark Agouti (DA) ラットの右足踵に投与し、その後の左右の足容積の変化を示したものである。右足、すなわち投与足の足容積は投与後 1 日目から著明に増大し、14—17 日目に最大に達した。一方、左非投与足では FCA 投与後最初の 7 日間は何ら足容積に変化を認めなかったが、10 日目以降から著明な足容積の増大が観察され、その増大は右投与足と同様に 14—17 日目に最大に達した。

一般的に、アジュバント関節炎モデルは全身性の炎症モデルであり、非投与足における足浮腫の発現が全身性炎症の発症を意味するものと考えられている。そこでまず、FCA 投与後経日的に代表的な NSAIDs の 1 つであるインドメタシンの胃粘膜傷害性について検討した。インドメタシン (25 mg/kg) の皮下投与は正常ラットにおいても明らかな出血性の胃粘膜損傷を惹起した (Fig. 1C)。一方関節炎ラットにおいては、インドメタシン (25 mg/kg) は FCA 投与 7 日目では正常ラットとほぼ同程度の損傷を惹起したが、14 日目ではその損傷は正常ラットと比較して著明に増悪していた。関節炎ラットにおけるインドメタシン誘起胃粘膜損傷の増悪は足浮腫の程度とほぼ相関しており、14 日目を最大として以後徐々に低下していた。ゆえに、関節炎ラットにおけるインドメタシン誘起胃粘膜損傷の増悪は

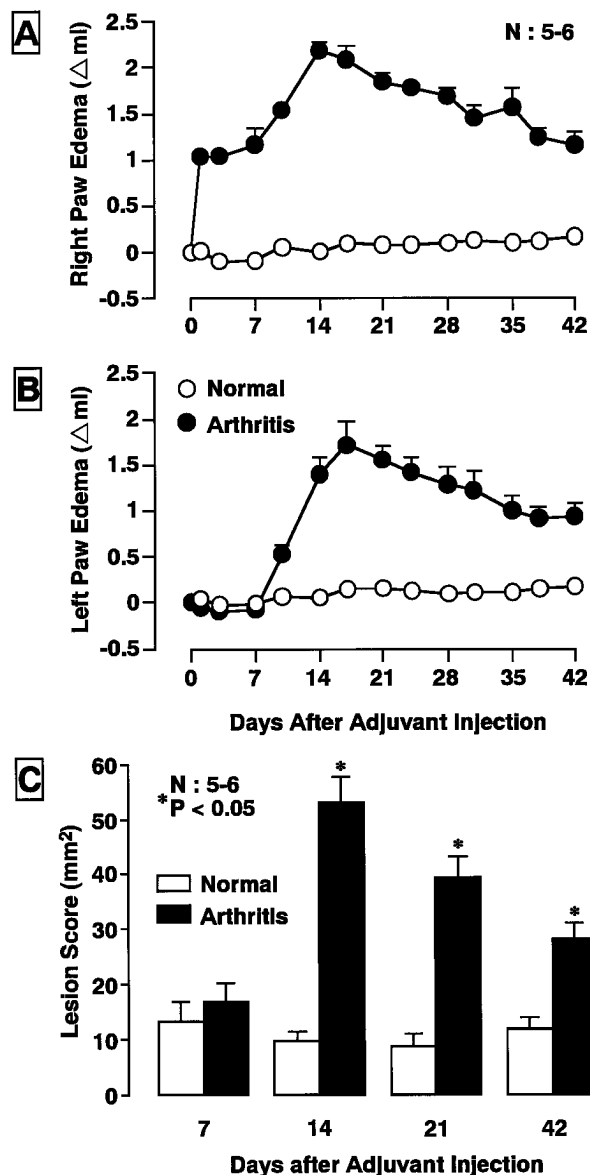


Fig. 1. Changes in Paw Edema and Gastric Ulcerogenic Response to Indomethacin in Normal and Arthritic Rats

Arthritis was induced by injection of Freund's complete adjuvant (FCA) into the planter region of the right hindfoot. The animals were given subcutaneously indomethacin (25 mg/kg) 7, 14, 21 and 42 days after FCA injection, and killed 4 hr later. Data are presented as the mean \pm SE from 5~6 rats per group. *Statistically significant difference from the aged and batch-matched normal rats at $p < 0.05$. A & B: the right and left paw edema, C: the gastric mucosal lesions induced by indomethacin.

FCA 投与後の全身性炎症反応の結果生じるものであると推察される。またインドメタシンのみならず、アスピリンの経口投与により誘起される胃粘膜損傷も同様に関節炎ラットでは有意に増悪することも観察されており、⁹⁾ NSAIDs による胃粘膜傷害性の増悪はアジュバント関節炎ラットにおいて普遍的に認められる現象であると考えられる。

インドメタシンをはじめとする種々の胃粘膜損傷

において、胃酸が損傷発生あるいは増悪因子として重要な役割を果たしていることはよく知られている。アジュバント関節炎においては血清ガストリン量の上昇により胃酸分泌が著明に増大していることが報告されており、^{10,11)} この酸分泌の増大がアスピリン誘起胃粘膜損傷の増悪に関与している可能性が指摘されている。²⁾ 実際、我々もアジュバント関節炎ラットの基礎胃酸分泌を幽門結紮法により検討したところ、関節炎ラットの基礎胃酸分泌量は正常ラットと比較して約2倍に増大していることを確認している。しかし、外因性に150 mM 塩酸を経口投与することにより内因性の酸分泌変化をマスクした条件下においても、関節炎ラットにおいてはインドメタシン誘起胃粘膜損傷の増悪が同様に観察された。したがって、インドメタシン誘起胃粘膜損傷の増悪現象は内因性の酸分泌の増大に起因したものではないと考えられる。

近年、胃粘膜防御機構の調節因子として以前から知られているプロスタグランジンに加えて、一酸化窒素(NO)が注目されている。¹²⁾ 実際、外因性に投与されたNOが胃粘膜保護作用を示すことなどが数多く報告されている。¹³⁾ 一方、NOはこのような防御的な役割だけでなく、大量に産生された場合

には逆に傷害性に作用することも知られている。特に誘導型NO合成酵素(iNOS)から産生される大量のNOは消化管においても傷害を惹起することが報告されており、¹⁴⁻¹⁸⁾ 種々の消化管病変との関連性が指摘されている。そこで、関節炎ラットにおけるインドメタシン誘起胃粘膜損傷の増悪におけるNOの関与を検討する目的で、非選択的NOS阻害薬であるN^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)及びiNOSを比較的選択的に阻害するアミノグアニジンを用いて検討した(Fig. 2)。正常ラットにおけるインドメタシン誘起胃損傷はこれら両阻害薬によつては何ら影響を受けなかったが、関節炎ラットにおける胃粘膜損傷の増悪はL-NAME及びアミノグアニジンのいずれによつても有意に抑制された。また、胃粘膜iNOS酵素活性及びiNOS mRNA発現をそれぞれL-アルギニンからL-シトルリンへの変換及びRT-PCR法を用いて検討したところ、正常ラット胃粘膜ではiNOS活性並びにiNOS mRNA発現はほとんど認められなかったのに対し、関節炎ラットでは著明なiNOS活性の増大並びにiNOS mRNA発現が観察された。これらの結果から、関節炎ラットにおけるインドメタシン誘起胃粘膜損傷の増悪には、おそらくiNOS由来のNOが関与して

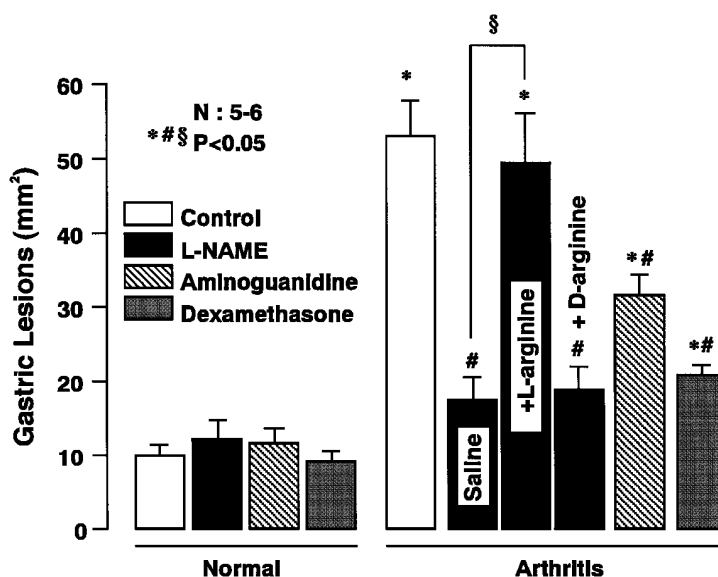


Fig. 2. Effects of N^G-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME), Aminoguanidine and Dexamethasone on Indomethacin-Induced Gastric Lesions in Normal and Arthritic Rats

The animals were given subcutaneously indomethacin (25 mg/kg) 14 days after FCA injection, and killed 4 hr later. L-NAME (20 mg/kg) and aminoguanidine (20 mg/kg) were given subcutaneously twice daily, 18 hr and 0.5 hr before indomethacin, while dexamethasone (3 mg/kg) was given subcutaneously twice daily, 18 hr and 2 hr before indomethacin. L- or D-arginine (500 mg/kg) was administered intraperitoneally every 0.5 hr before L-NAME treatments. Data are presented as the mean \pm SE from 5~6 rats per group. Statistically significant difference at $p < 0.05$; *from control (vehicle alone), #from the corresponding group in normal rats, §from saline (L-NAME alone) in arthritic rats.

いるものと推察される。

3. 慢性胃潰瘍の治癒に及ぼす影響

臨床において、NSAIDsを慢性的に使用する患者は高頻度に胃潰瘍を発症することが知られている。特にRA患者ではNSAIDsを使用する期間が長いばかりでなく、それ以上に胃潰瘍などの消化管障害の発生頻度が高い傾向があることが知られている。¹⁾ 実験動物レベルにおいては、実験的に作成した慢性潰瘍の治癒がインドメタシンの連続投与により有意に遅延することが報告されている。⁴⁾ しかし、慢性潰瘍の治癒反応が関節炎によって影響を受けるのか、またインドメタシンなどのNSAIDs連続投与による治癒遅延が関節炎によってさらに修飾されるのかについては不明である。そこで著者は、慢性潰瘍モデルとして知られている焼灼潰瘍モデルを用いて、関節炎ラットにおける慢性潰瘍の治癒反応を正常ラットと比較検討した。左非投与足がまだ浮腫を発症していないFCA投与7日目に70度に熱した金属製のコテ(直径9mm)を20秒間ラットの胃漿膜に接触させることにより慢性潰瘍を惹起した。潰瘍面積は作製3日後に最大に達し、その際の正常及び関節炎ラットの潰瘍面積はほぼ同程度であった(Fig. 3)。正常ラットの潰瘍は経日的に治癒縮小したが、関節炎ラットにおける治癒反応は正常ラットと比較して有意に遅延していた。すなわち、

関節炎ラットではインドメタシンなどによる胃粘膜傷害性が増大していると同時に、一旦発生した潰瘍の治癒反応も遅延していることが明らかとなった。また、インドメタシンの連続投与は慢性潰瘍の治癒を遅延させることが知られているが、関節炎ラットにおける慢性潰瘍の治癒遅延をインドメタシンの連続投与はさらに助長することが判明した。

関節炎ラットにおける慢性潰瘍の治癒遅延の機序を検討するため、まずインドメタシン誘起胃粘膜損傷の増悪に関連していることが判明しているiNOS/NOの関与について検討した(Fig. 4)。L-NAME及びアミノグアニジンの連続投与は正常ラットにおける慢性潰瘍の治癒反応をやや遅延させる傾向が認められたものの、統計学的に有意なものではなかった。一方、関節炎ラットにおける慢性潰瘍の治癒遅延に対してこれらの両薬物は何ら影響を及ぼさなかったことから、関節炎ラットにおける治癒遅延現象にはiNOS/NOは関与しないものと考えられる。

先述のごとく、著者はアジュバント関節炎ラットでは基礎胃酸分泌が正常ラットに比較して有意に増大していることを観察している。一般に、胃酸分泌は慢性潰瘍の治癒に対する遅延因子の1つとして知られており、^{19,20)} 酸分泌抑制薬の連続投与が酢酸誘起の慢性潰瘍の治癒を有意に促進することが報告されている。^{21,22)} したがって、関節炎ラットで観察さ

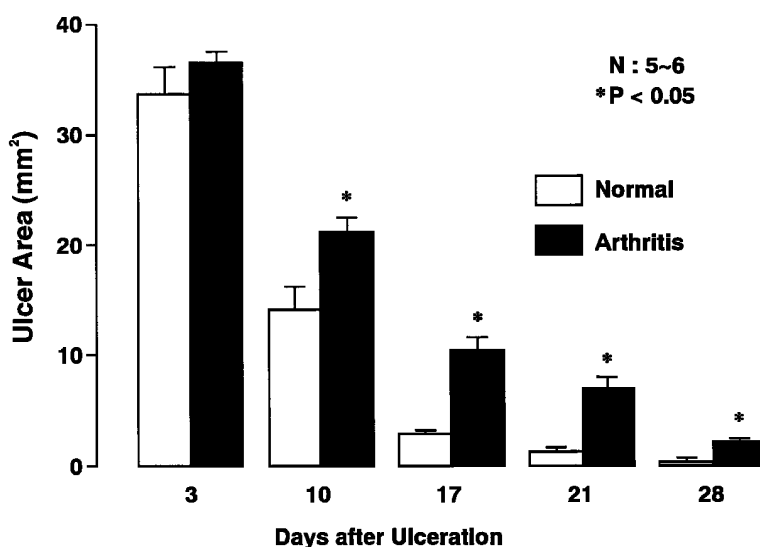


Fig. 3. Changes in Ulcer Area in Normal and Arthritic Rats after Ulceration

The chronic gastric ulcer was induced by thermal cauterization (70°C, 30 sec.) on day 7 after the FCA injection. The animals were killed 3, 10, 17, 21 and 24 days after ulceration. Data are presented as the mean \pm SE from 5~6 rats per group. *Statistically significant difference from the aged and batch-matched normal rats at $p < 0.05$.

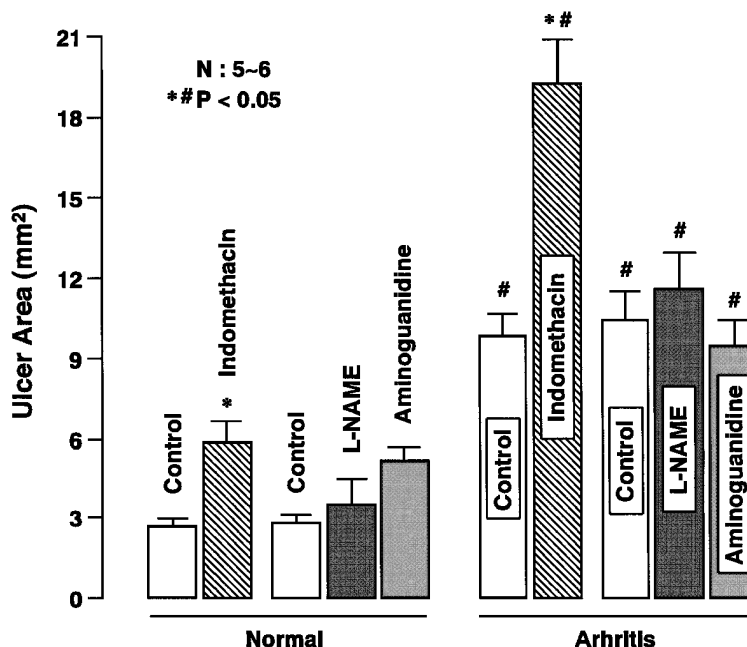


Fig. 4. Effects of Indomethacin, L-NAME and Aminoguanidine on the Healing of Chronic Gastric Ulcers in Normal and Arthritic Rats.

The animals were administered subcutaneously indomethacin (1 mg/kg) once daily, and L-NAME (20 mg/kg) or aminoguanidine (20 mg/kg) twice daily for 14 days, starting from days after ulceration, and they were killed 17 days later. Data are presented as the mean \pm SE from 5~6 rats. Statistically significant difference at $p < 0.05$, *from the respective control (vehicle alone), #from the corresponding group in normal rats.

れた慢性潰瘍の治癒遅延が酸分泌の増大に関連している可能性が十分に考えられる。実際著者は、プロトンポンプ阻害薬であるオメプラゾールの連続投与が正常及び関節炎ラットにおける慢性潰瘍の治癒を有意に促進することを認めた。当然のことながら、オメプラゾールは正常ラットにおける治癒も有意に促進し、またオメプラゾール処置下においても関節炎ラットにおける慢性潰瘍の治癒反応は正常ラットに比較して有意に遅延しており、胃酸分泌以外の機序が推察される。

以前より慢性潰瘍の治癒において、種々の増殖因子の関与が想定されている。²³⁾ 実際、慢性潰瘍の治癒反応は塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) などの連続投与により有意に促進することが報告されている。²⁴⁻²⁶⁾ 著者も bFGF の酸安定型誘導体である CS-23 を連続投与したところ、正常ラットにおける慢性潰瘍の治癒反応を有意に促進した (Fig. 5A)。さらに興味深いことに、関節炎ラットにおいて観察された慢性潰瘍の治癒遅延に対しても有意な促進作用が観察され、その作用はオメプラゾールと比較してもより強力であった。そこで、正常及び関節炎ラットにおける胃粘膜 bFGF 発現量を Western blot

法により検討した (Fig. 5B)。正常ラットでは潰瘍作製直後から著明な bFGF 発現の増大が観察されたが、関節炎ラットでそのような増大反応は著明に減弱していることが判明した。さらに、他の増殖因子についても検討してみたところ、同様の発現低下はインスリン様増殖因子 (IGF)-1 においても認められた。²⁷⁾ これらの結果は、関節炎ラットにおける慢性潰瘍の治癒遅延の機序として、bFGF や IGF-1 をはじめとする種々の細胞増殖因子の発現低下が関与している可能性を示唆するものである。

4. COX-2 選択的阻害薬の胃粘膜傷害性

近年、消化障害などの副作用の少ない抗炎症薬としていくつかの COX-2 選択的阻害薬が開発されており、臨床においても注目されている。しかし、消化管粘膜の統合性維持における COX アイソザイムの役割については様々な報告が試されており、ある状況下における胃粘膜防御においては COX-1 のみならず COX-2 由来の PGs も重要な役割を果たしていることが示されている。²⁸⁾ また、一旦発生した潰瘍の治癒過程においても COX-2 が重要な役割を果たしており、従来の非選択的 NSAIDs と同様に COX-2 選択的阻害薬が潰瘍治癒を有意に遅延させ

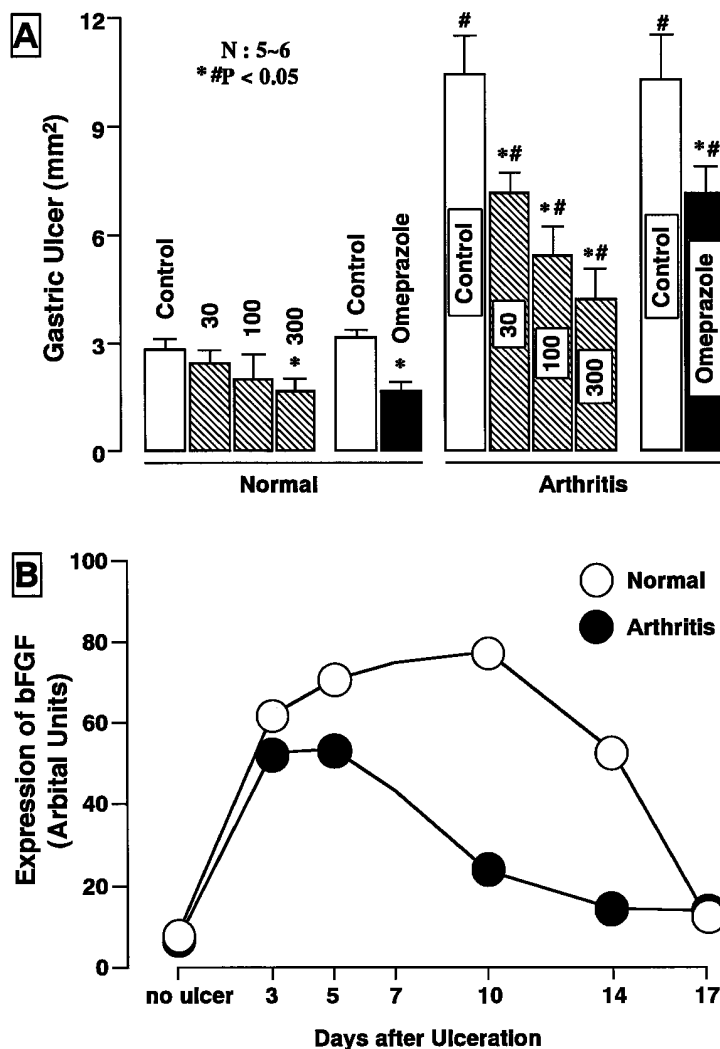


Fig. 5. Effects of CS-23 or Omeprazole on the Healing of Chronic Gastric Ulcers (A) and Expression of Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) after Ulceration in Normal and Arthritic Rats (B)

The animals were administered subcutaneously CS-23 (30~300 ng/kg) twice daily or omeprazole (30 mg/kg) once daily for 14 days, starting from 3 days after ulceration, and they were killed 17 days later. Data are presented as the mean \pm SE from 5~6 rats per group. Statistically significant difference at $p < 0.05$, *from control (vehicle alone), #from the corresponding group in normal rats. On the other hand, the expression of bFGF was determined using Western blot analyses 3, 5, 7, 10, 14 and 17 days after ulceration.

ることが報告されている。²⁹⁾ このように、COX-2 選択的阻害薬の安全性については疑問な点も多く、より詳細な検討が必要であると思われる。それゆえ、胃粘膜傷害性が増大していることが証明されている関節炎ラットにおける COX-2 選択的阻害薬の傷害性を検討することは、臨床的観点からも非常に興味深い。

そこで著者は、この点についてアジュバント関節炎ラットを用いて COX-2 選択的阻害薬の胃粘膜傷害性について正常ラットと比較検討した。正常ラットにおいては、これまでの多くの報告と同様に COX-2 選択的阻害薬であるロフェコキシブ並びに

セレコキシブは、100 mg/kg の高用量でも胃粘膜に対しては全く傷害性を示さなかった (Fig. 6)。これに対して、FCA 投与 14 日目の関節炎ラットではインドメタシンと同様に両 COX-2 選択的阻害薬は用量依存的な胃粘膜損傷を惹起した。元来、COX-1 は胃粘膜に恒常的に発現しており、正常胃粘膜における恒常性維持に重要な役割を果たしているものと考えられてきた。一方、COX-2 は平常時にはほとんど発現しておらず、炎症などの病態部位で発現する誘導型の酵素であり、炎症反応と密接に関連していることが知られている。³⁰⁻³²⁾ すなわち、COX-2 選択的阻害薬は胃粘膜などの恒常性維持に

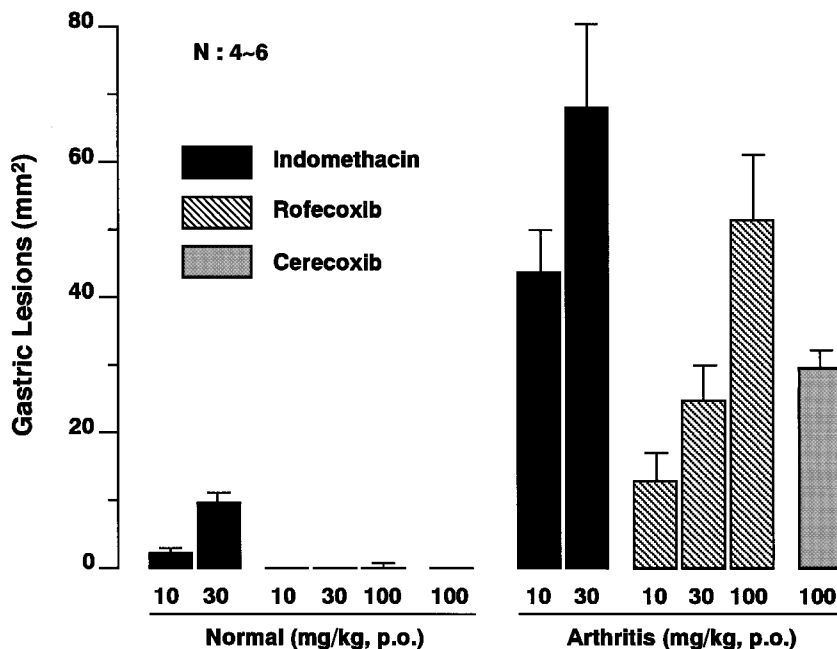


Fig. 6. Changes in Ulcerogenic Response to Indomethacin, Rofecoxib and Celecoxib on in Normal and Arthritic Rats

The animals were given orally indomethacin (10 and 30 mg/kg), rofecoxib (10~100 mg/kg) and celecoxib (100 mg/kg) 14 days after FCA injection, and killed 4 hr later. Data are presented as the mean \pm SE from 4~6 rats per group.

重要である COX-1 由来の PG 産生には影響を与えることなく、炎症部位における COX-2 由来の PG 産生のみを阻害する結果、消化管障害などの副作用の少ない抗炎症薬であると考えられている。³³⁾ したがって、COX-2 選択的阻害薬が関節炎ラットにおいて胃粘膜障害を惹起したことは、これらの薬剤の臨床使用において極めて重要な意義を持つものと思われる。また、著者は正常ラットの胃粘膜では COX-2 はほとんど発現していなかったのに対して、関節炎ラットでは著明な COX-2 発現が観察され、また胃粘膜 PGE₂ 含量も有意に増大していることを認めている。さらに、関節炎ラットの胃粘膜では血管透過性が正常ラットと比較して有意に亢進していることも観察された。血管透過性の亢進は胃粘膜の微小循環系などに何らかの傷害が存在していることを示唆するものであり、そのような傷害の結果 COX-2 などの炎症に関連する誘導型酵素が発現した可能性が推察される。実際、著者は胃粘膜に軽微な傷害を与えた場合にも COX-2 発現が増大することを報告している。³⁴⁾ すなわち、関節炎ラットでは胃粘膜に血管透過性の亢進を伴った傷害が存在しているが、COX-2 由来の PG 産生により傷害の更なる進展が防御されていた可能性が考えられる。関節

炎ラットで認められた胃粘膜血管透過性の亢進の機序については不明であるが、おそらく関節炎に付随した痛みなどによる慢性的なストレスによる可能性も考えられる。今後、この点に関する更なる検討が必要であると思われる。

5. 結語

本研究において、アジュバント関節炎ラットではインドメタシンなどの NSAIDs による胃粘膜傷害性が正常ラットと比較して著明に増悪していることが明らかとなった。その増悪機序としては、関節炎ラットの胃粘膜における iNOS 由来の NO が関与しているものと推察される。また、関節炎ラットでは慢性胃潰瘍の治癒も正常ラットと比較して有意に遅延していることが判明した。関節炎ラットの胃粘膜では潰瘍発生後に認められる bFGF や IGF-1 などの種々の増殖因子の発現増加が著明に低下しており、そのことが治癒遅延の原因であると考えられる。さらに、近年消化管障害性の少ない抗炎症薬として注目されている COX-2 選択的阻害薬が関節炎ラットでは明らかな胃粘膜損傷を惹起することを見出した。したがって、関節炎ラットにおいては、COX-1 のみならず、COX-2 もまた胃粘膜防御において重要な役割を果たしている可能性が推察される。

本研究は、実際の RA などの慢性的な全身性炎症状態における NSAIDs の消化管に対する影響を検討したものであり、臨床的観点から極めて重要であると思われる。実際、関節炎ラットにおける NSAIDs 誘起胃粘膜損傷の増悪や慢性潰瘍の治癒遅延の機序に関して新たな概念を提唱することができたことは極めて意義深いものである。また、COX-2 選択的阻害薬は元来胃粘膜傷害性が少ないと考えられていたが、関節炎ラットにおいては従来の NSAIDs に比べれば弱いものの、明らかな胃粘膜傷害性を示したことから、臨床、特に RA 患者に対する使用においては慎重になる必要があると思われる。今後、RA などの病態をターゲットとした抗炎症薬などの開発においては、実際の臨床を踏まえて、関節炎を発症させた動物を用いて基礎研究を行っていくことが重要であると考えられる。

謝辞 本総説で紹介させていただいた研究成果は、京都薬科大学薬物治療学教室において行われたものであり、ご指導ご助言を賜りました竹内孝治教授並びにご協力を頂きました同教室の皆様には厚く御礼申し上げます。なお、本研究の一部は文部省科学研究費補助金によって行われたものであり、併せて感謝の意を表します。

REFERENCES

- 1) Fries J. F., Miller S. R., Spitz P. W., Williams C. A., Hubert H. B., Bloch D. A., *Gastroenterology*, **96**, 647-655 (1989).
- 2) Schleyerbach R., Wedde H., *Agents & Actions*, **15**, 392-397 (1984).
- 3) Rainsford K. D., *Dig. Dis.*, **23**, 521-530 (1978).
- 4) Wang J. Y., Yamasaki S., Takeuchi K., Okabe S., *Gastroenterology*, **96**, 393-402 (1989).
- 5) Kato S., Tanaka A., Kunikata T., Nishijima M., Takeuchi K., *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **13**, 833-840 (1999).
- 6) Kato S., Tanaka A., Kunikata T., Mizoguchi H., Takeuchi K., *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **14**, 18-25 (2000).
- 7) Kato S., Ogawa Y., Tanaka A., Kunikata T., Takeuchi K., *Digestion*, **63**, 171-179 (2001).
- 8) Kato S., Ogawa Y., Kunikata T., Watanabe T., Arakawa T., Takeuchi K., *Gastroenterology*, **120**, A-143 (2001).
- 9) Kato S., Suzuki K., Ukawa H., Komoike Y., Takeuchi K., *Dig. Dis. Sci.*, (2001) in press.
- 10) Rooney P. J., Dick W. C., *Nature*, **246**, 497-498 (1973).
- 11) Mathur P. P., Smith R. D., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **212**, 333-336 (1979).
- 12) Moncada S., Palmer R. M. J., Higgs R. A., *Pharmacol. Rev.*, 109-142 (1991).
- 13) Lopez-Belmonte J., Whittle B. J. R., Moncada S., *Br. J. Pharmacol.*, **108**, 73-78 (1993).
- 14) Ribbons R. A., Zhang X. J., Thompson J. H., Greenberg S. S., Moore W. M., Kornmeier C. M., Currie M. G., Lerche N., Blanchard J., Clark D. A., *Gastroenterology*, **108**, 705-711 (1995).
- 15) Mourelle M., Vllaseca J., Guarner P., Salas A., Malagelada J. R., *Am. J. Physiol.*, **270**, G425-G430 (1996).
- 16) Yasuhiro T., Ukawa H., Kato S., Takeuchi K., *J. Physiol. (Paris)*, **91**, 131-138 (1997).
- 17) Yasuhiro T., Korolkiewicz R. P., Kato S., Takeuchi K., *Pharmacol. Res.*, **36**, 333-338 (1997).
- 18) Whittle B. J. R., Laszlo F., Evans S. M., Moncada S., *Br. J. Pharmacol.*, **116**, 2286-2290 (1995).
- 19) Halter F., Barbezat G. O., Van Hoorn-Hickman R., Van Hoorn W. A., *Dig. Dis. Sci.*, **25**, 916-920 (1980).
- 20) Okabe S., Pfeiffer C. J., *Am. J. Dig. Dis.*, **17**, 619-629 (1972).
- 21) Yamamoto O., Okada M., Okabe S., *Dig. Dis. Sci.*, **29**, 394-401 (1984).
- 22) Inauen W., Wyss P. A., Kayser S., Baumgartner A., Schurer-Maly C. C., Koelz H. R., Halter F., *Gastroenterology*, **95**, 636-641 (1988).
- 23) Folkman J., Klagsbrun M., *Sciences*, **235**, 442-447 (1987).
- 24) Folkman J., Szabo S., Strovroff M., McNeil P., Li W., Shing Y., *Ann. Surg.*, **214**, 414-427 (1991).
- 25) Satoh H., Shino A., Sato F., Asano S., Murakami I., Inatomi N., Nagaya H., Katoh K., Szabo S., Folkman J., *Jpn. J. Pharmacol.*, **73**, 59-71 (1997).
- 26) Szabo S., Folkman J., Vattay P., Morales R.

- E., Pinkus G. S., Kato K., *Gastroenterology*, **106**, 1106–1111 (1994).
- 27) Kato S., Tanaka A., Ogawa Y., Kanatsu K., Seto K., Yoneda T., Takeuchi K., *Med. Sci. Monit.*, **7**, 20–25 (2001).
- 28) Yamamoto H., Tanaka A., Kunikata T., Hirata T., Kato S., Takeuchi K., *J. Physiol. Paris*, **93**, 405–412 (1999).
- 29) Mizuno H., Sakamoto C., Matsuda K., Wada K., Uchida T., Noguchi H., Akamatsu T., Kasuga M., *Gastroenterology*, **112**, 387–397 (1997).
- 30) Xie W., Chipman J. G., Robertson D. L., Erikson R. L., Simmons D. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 7563–7568 (1999).
- 31) Vane J. R., Mitchell J. A., Appleton I., Tomlinson A., Bishop-Bailey D., Croxtall J., Willoughby D. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**, 2046–2050 (1994).
- 32) Dubois R. N., Abramson S. M., Crofford L., Gupta R. A., Simon L. S., Van De Putte L. B., Lipsky P. E., *FASEB J.*, **12**, 1063–1073 (1998).
- 33) Brooks P., Emery P., Evans J. F., Fenner H., Hawkey C. J., Patrono C., Smolen J., Breedveld F., Day R., Dougados M., Ehrich E. W., Gijon-Banos J., Kvien T. K., Van Rijswijk M. H., Warner T., Zeidler H., *Rheumatology (Oxford)*, **38**, 779–88 (1999).
- 34) Hirata T., Ukawa H., Yamakuni H., Kato S., Takeuchi K., *Br. J. Pharmacol.*, **122**, 447–454 (1997).