

## Review Article

## 炎症と活性酸素,一酸化窒素(NO),一酸化炭素(CO) 炎症性腸疾患を中心に

吉川敏一<sup>1)</sup>, 内藤裕二<sup>2)</sup><sup>1)</sup>京都府立医科大学大学院医学研究科生体機能制御学, <sup>2)</sup>同消化器病態制御学*Reactive oxygen species, nitric oxide, and carbon monoxide in inflammatory bowel disease*

This paper is focused on the role of reactive oxygen species (ROS), nitric oxide (NO), and carbon monoxide (CO) in inflammatory bowel disease. ROS and NO production as well as the expression of inducible NO synthase (iNOS) appears to be enhanced in the intestinal mucosa with active inflammation. Treatment of superoxide dismutase (SOD) or the potent iNOS inhibitor, ONO-1714, ameliorated colonic mucosal injury and NO production in mice administered with dextran sulfate sodium (DSS) in mice. The expression of heme oxygenase (HO)-1 is markedly induced in inflamed colonic tissue, and co-administration with an HO inhibitor enhanced inflammation and the disease activity index in mice. These results suggest that gaseous mediators may play a role in regulating the inflammatory response in the intestinal mucosa.

Rec.8/25/2004, pp545-552

Toshikazu Yoshikawa<sup>1)</sup>, Yuji Naito<sup>2)</sup><sup>1)</sup>Inflammation and Immunology, <sup>2)</sup>Molecular Gastroenterology and Hepatology, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine**Key words** reactive oxygen species, nitric oxide, heme oxygenase, carbon monoxide, bilirubin

炎症反応における活性酸素やガス状メディエーターの役割が注目されている。本稿では、ヒト慢性炎症性疾患の代表である炎症性腸疾患を取り上げ、それらの関与について当教室の成績ならびに最近の進歩について解説した。炎症性腸疾患における酸化ストレスの関与が明らかとなりつつあり、最近になって抗酸化作用を有する薬剤や活性化白血球除去の臨床応用が試みられつつある。ガス状メディエーターである一酸化窒素(NO)や一酸化炭素(CO)についての知見は十分ではないが、炎症性腸疾患の腸管局所においては、誘導型NO合成酵素(iNOS)や誘導型Heme oxygenase(HO-1)の発現が誘導される。iNOSやHO-1の役割ならびに産生されるNOやCOの作用についての詳細は解明されていないが、炎症性腸疾患に対する新たな治療標的分子としての可能性が指摘されている。

## 炎症性腸疾患と酸化ストレス

潰瘍性大腸炎やクローン病患者においては好中球活性酸素産生の亢進、抗酸化機構の低下、酸化的DNA損傷マーカーの増加が報告され、酸化ストレスにより炎症病態が修飾されている。潰瘍性大腸炎粘膜では陰窩膿瘍に代表されるように、著明な好中球浸潤を伴うことが特徴であり、抗大腸抗体免疫複合体、補体、腸内細菌叢、炎症性サイトカインなどにより活性化された好中球が、大量の活性酸素を産生し、lysosomal酵素と相まって大腸粘膜上皮細胞傷害を引き起こすことが容易に想像できる。末梢血の好中球を活性化する因子としては、tumor necrosis factor(TNF)-などの炎症性サイトカインの関与が注目されてきたが、最近では、活性化血小板による好中球の活性化機構が潰瘍性大腸炎患者で見出されている<sup>1)</sup>。活性化した末梢白血球を除去することによる潰瘍性大腸炎治療もすでに臨床

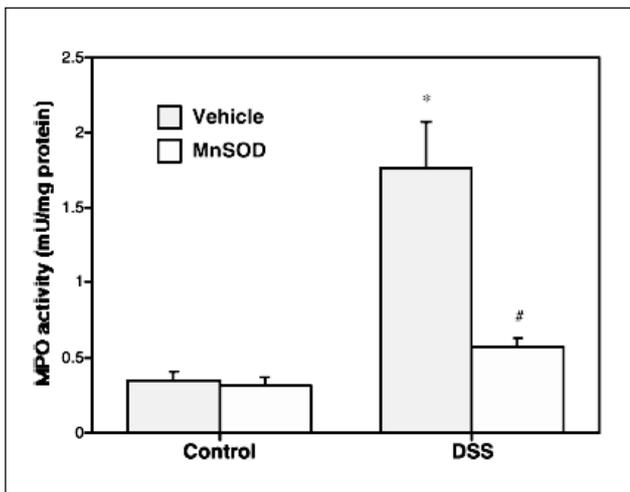


図1 デキストラン硫酸(DSS)大腸炎に対するMnSODの効果

\*p < 0.01 vs Control. #p < 0.05 vs Vehicle + DSS.

8% デキストラン硫酸投与によるマウス大腸炎は MnSOD (50,000 U/kg)腹腔内投与により有意に抑制された。(文献2)より引用)

応用され,有効性が報告されているものの,その作用機構の詳細は明らかでない。

ヒト潰瘍性大腸炎に組織像が類似したマウスデキストラン硫酸(DSS)惹起性大腸炎モデルによる検討でも,DSS投与後大腸粘膜には著明な好中球浸潤,腸炎の発症を認め,これらの変化はスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)の前処置により軽減され(図1)<sup>2)</sup>, CuZn-SOD transgenic miceでも有意に抑制される<sup>3)</sup>. ラットトリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)惹起性大腸炎における検討でも同様の結果であった.これらの結果は間接的ではあるが,腸粘膜傷害の出現に浸潤した白血球ならびにスーパーオキシドに由来する活性酸素種の関与を強く示唆するものである.ただし,DSS大腸炎における好中球やSODの役割については否定的な成績もある.好中球の活性酸素産生酵素NADPH oxidaseの欠損マウスでは,DSS大腸炎の程度は変化しない<sup>4)</sup>.

炎症性腸疾患における酸化ストレスの関与が明らかになるにつれ,この悪玉の活性酸素を消去あるいは制御する薬剤が本疾患の治療に応用できるのではないかと考えられるようになり,実際いくつかの薬剤も臨床応用されようとしている. salicylazosulfapyridineおよびその代謝物質である5-aminosalicylic acid(5-ASA), sulfapyridineが好中球活性酸素産生を抑制することや,強い抗酸化活性を有するpolaprezincがTNBS大腸炎の

表1 Inhibition of NF- $\kappa$ B pathway by various anti-inflammatory agents

antisense oligonucleotides to the p65 subunit  
super-repressor mutated nondegradable I $\kappa$ B  
26S proteasome inhibitor  
glucocorticoid  
sulfasalazine  
5-aminosalicylic acid  
peroxisome proliferator-activated receptor-  
interleukin-10  
butyrate  
gliotoxin  
phenyl N-tert-butyl nitron  
antioxidants

発症を抑制し,腸粘膜過酸化脂質の上昇を抑制することも報告されている<sup>5)</sup>.さらに抗酸化作用を有する抗潰瘍薬rebamipideの注腸が実験大腸炎モデルに有効であり<sup>6)</sup>,臨床試験も開始されている<sup>7)</sup>. Kimuraらは<sup>8,9)</sup>, サリチル酸誘導体(BX661A)を新規合成し,潰瘍性大腸炎に対する新しい治療薬として報告している. BX661Aは,スーパーオキシド消去能,次亜塩素酸消去能を有する興味ある薬剤であり,実験モデルであるDSS腸炎にも有効性が報告されている.さらに新規に合成された水溶性ビタミンE誘導体<sup>10,11)</sup>やフリーラジカル捕捉剤であるphenyl N-tert-butyl nitron(PBN)<sup>12)</sup>などによりTNBS大腸炎やDSS大腸炎の発症が有意に抑制される.

炎症性腸疾患のような慢性炎症を考慮した場合には,炎症により誘導される活性酸素,一酸化窒素,サイトカインなど多くのメディエーターがあり,それぞれを抑制するよりも,それら遺伝子の転写調節因子であるNF- $\kappa$ Bをターゲットとした治療も試みられている<sup>13-15)</sup>. NF- $\kappa$ B活性化ならびに抑制機構については炎症性腸疾患の病変形成において最も興味もたれる分野であり,近年,疾患感受性遺伝子としてもNF- $\kappa$ B活性化制御シグナルの一塩基多型(SNPs)が注目されている. Steroid, sulfasalazine, proteasome阻害剤,抗炎症性サイトカインIL-10,核内受容体PPAR- $\gamma$  ligand, PBN,抗酸化剤などの抗炎症効果の作用機構の一つとしてNF- $\kappa$ B活性化抑制による可能性がある(表1). PPAR- $\gamma$  ligandであるpioglitazoneやrosiglitazoneは実

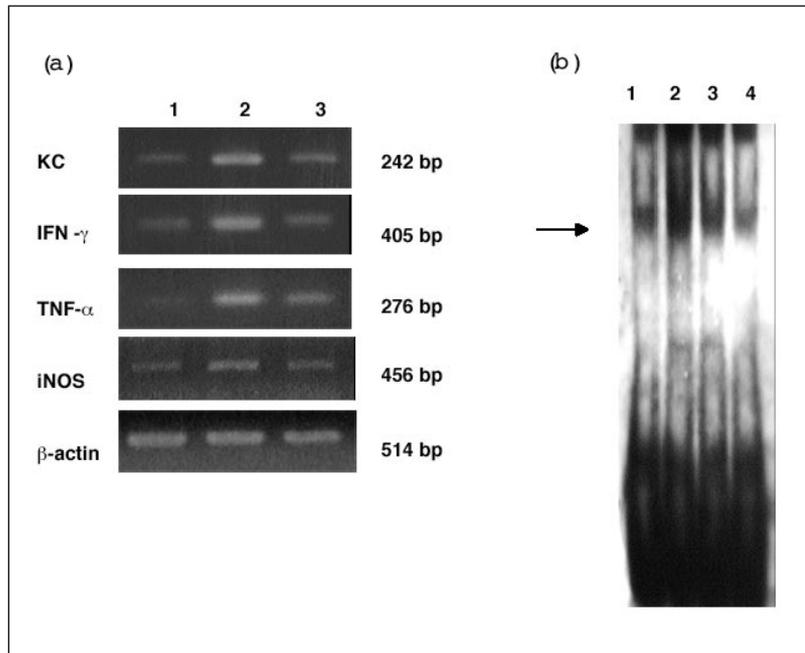


図2 DSS腸炎におけるNF- $\kappa$ B活性化とその下流遺伝子の発現に対するpioglitazoneの効果

8% デキストラン硫酸投与によるマウス大腸炎は、pioglitazone の投与により有意に抑制され、ゲルシフト法で評価したNF- $\kappa$ B活性化やその下流遺伝子であるIL-8様サイトカインKC, interferone- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), inducible nitric oxide synthase (iNOS)などの発現も抑制された。1: sham群, 2: DSS群, 3: DSS+pioglitazone群, 4: sham+pioglitazone群。(文献16)より引用)

験大腸炎モデルに限らず<sup>16,17)</sup>, ヒト臨床試験が開始されている<sup>18)</sup>。DSS大腸炎を用いたpioglitazoneの有効性に関する検討でも、NF- $\kappa$ B活性化抑制やその下流遺伝子群の発現は低下していた<sup>16)</sup>(図2)。このNF- $\kappa$ Bの活性化機構は、大腸粘膜に発現しているToll-like receptorを介したシグナルにより活性化されることも分かっており、innate immunityと大腸炎症を理解する上で、NF- $\kappa$ Bは重要なkey moleculeである。

### 炎症性腸疾患とNO

実験大腸炎モデルやヒト炎症性腸疾患の活動期においては、大腸粘膜におけるNO産生の増加やiNOS遺伝子の発現増強が見出されている。免疫組織学的にはiNOS陽性細胞は腸管粘膜上皮、粘膜内あるいはcrypt abscess内の好中球、粘膜固有層の単球などに観察される<sup>19,20)</sup>。これらのiNOS陽性細胞の出現やNO産生増加は疾患活動性と相関していることが多く、治療による寛解により著しく陽性細胞、NO産生は低下する。このiNOS発現誘導に最も重要な役割を果たしているの

がTNF- $\alpha$ と考えられている。TNF- $\alpha$ 前駆体をsheddingするTNF- $\alpha$  convertaseの阻害剤投与下ではiNOS発現が抑制され<sup>21)</sup>、またTNF- $\alpha$ 欠損マウスにおいて大腸粘膜内iNOS発現の誘導が遅延することなどより<sup>22)</sup>、iNOS発現誘導におけるTNF- $\alpha$ の重要性は明らかである。しかし、腸管粘膜上皮におけるiNOS発現の意義については十分な理解が得られておらず、正常の大腸粘膜粘膜にも観察されることから、腸管内細菌に対する生理的な生体防御反応である可能性も指摘されている<sup>23)</sup>。

iNOS由来のNOが抗炎症として作用しているのか、向炎症として作用しているのかについては、iNOS遺伝子欠損マウスによる検討とiNOS酵素阻害剤による検討がある。iNOS遺伝子欠損マウスを用いて実験大腸炎を作製した結果が報告されているが、その結果は必ずしも一致していない。酢酸、TNBS、DSSによる化学大腸炎による検討では、同じ実験モデルであってもiNOS遺伝子欠損マウスで悪化するものや、炎症が抑制されるとする結果がある。この著明な差異

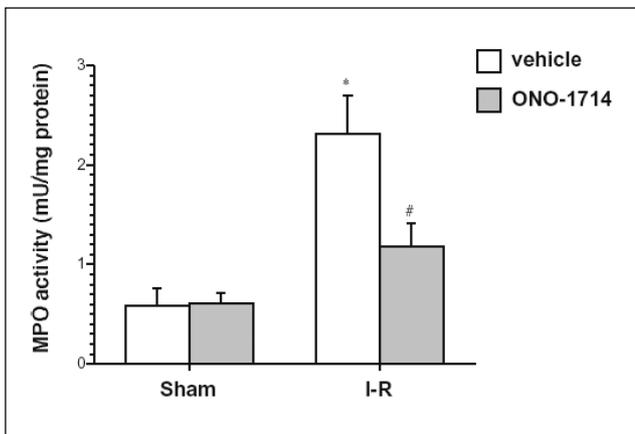


図3 特異的iNOS阻害剤ONO-1714のデキストラン硫酸惹起大腸炎に対する効果

\* $p < 0.01$  vs No treatment. # $p < 0.05$  vs DSS alone. (文献25)より引用)

の解釈は難しいものの、飼育環境による差異とする考え方もある。少なくともSPF環境下で飼育されたマウス実験大腸炎は、iNOS遺伝子欠損や特異的iNOS阻害剤の投与により病変は抑制される。つまりconventionalな環境で飼育されたiNOS遺伝子欠損マウスでは、粘膜破壊により著明な炎症が生じることが予想される。腸内細菌叢は炎症性腸疾患の発症において極めて重要な役割を果たしていることが明らかにされており、今後、Toll-like受容体-NF- $\kappa$ B活性化-iNOS遺伝子発現カスケードの詳細な検討が必要である。

最近、iNOS選択性の極めて高い阻害剤が腸炎モデルを有意に抑制することが報告されている。Kankuriら<sup>24)</sup>は、ラットTNBS大腸炎モデルを用いて選択的iNOS阻害剤1400WとL-NAMEの効果と比較検討し、TNBによる急性大腸炎の発症、好中球浸潤を1400Wのみが著明に抑制するとしている。われわれもよりiNOS選択性の高い阻害剤であるONO-1714の効果をDSS大腸炎モデルで検討した<sup>25)</sup>。DSS自由飲水7日後に各種項目を評価したが、対照群における体重減少、腸管長の短縮は、ONO-1714の併用投与により有意に抑制された。腸管内ヘモグロビン量は対照群で著明に増加し、ONO-1714の投与により有意に抑制された。組織学的にも、DSS投与7日後には粘膜内、粘膜下層の炎症細胞浸潤が著明で、粘膜上皮の脱落、びらんが観察されたが、ONO-1714の投与はそれらの変化を著明に抑制した(図3)。ONO-1714によるこれらの効果は、NO産生抑制による組織障害、炎症増悪の抑制効果だけでなく、種々の炎症性遺伝子の発現そのものを抑制

していたことより、NOそのものがこれら遺伝子発現に關与している可能性を示すものであり興味深く、現在その詳細を検討中である。

NO遊離試薬による大腸炎の抑制実験も試みられている。その根拠は、1)NOは微小循環系において種々の接着分子の発現を制御し、スーパーオキシド消去剤として作用することにより、好中球-血管内皮相互反応を抑制すること<sup>26)</sup>、2)NOはマクロファージに直接作用してTh1型サイトカイン誘導に重要なIL-12の産生をdown-regulationすること<sup>27)</sup>、などがある。実際に、大腸炎モデルに対してNO-mesalamine<sup>28)</sup>やDETA/NO<sup>29)</sup>などが炎症を抑制する。DETA/NOの投与は血管内皮接着分子のICAM-1やP-selectinの発現を抑制し、好中球の静脈への接着を有意に抑制することが報告されている。しかし、DETA/NOによる抑制効果は0.1、1 mg/kg/dayでは著明であるものの、その効果はbell-shapeであり、0.01 mg/kg/day、5 mg/kg/dayで効果は消失し、NO投与による抗炎症作用についてはさらなる検討を要する。実際に、70名のヒトクローン病を対象としたGlyceryl trinitrateとplaceboとの二重盲検比較試験では何ら有効な結果は得られていない<sup>30)</sup>。

化学大腸炎モデルを用いた検討では、iNOS由来のNOは大腸炎の成立、進展に主要な役割をすることが明らかとなり、iNOS遺伝子を標的とした治療の可能性を示唆するものである。実際にいくつかの特異的iNOS阻害剤が合成され、化学大腸炎モデルにおいては著効を示している。しかし、今後ヒトへの臨床応用を考慮する場合には以下の点に注意すべきであろう。まず第一に、生体においてconstitutiveにiNOSを発現している細胞への影響、ならびに*in vivo*で投与した場合のiNOSへの選択性の問題である。第二に、いわゆる免疫大腸炎モデルに対してiNOS阻害の有効性が見られない点である。CD4<sup>+</sup>CD45RB<sup>high</sup>T細胞移入モデル、IL-10欠損マウス、HLA-B27 transgenic ratなどの腸炎モデルではiNOS阻害剤投与、iNOS遺伝子欠損は有効でない。誘導型一酸化窒素合成酵素は治療標的分子とするにはevidenceが足りないと考えらるべきであろう。

## 炎症性腸疾患とHeme oxygenase

Heme oxygenase (HO)はヘム鉄をbiliverdinに分解する律速酵素であり、その反応の過程でfree鉄と一酸化炭素carbon monoxide (CO)を生成する。現在までに誘導型HO (HO-1)と構成型HO (HO-2, HO-3)が報告されている。COが生成される生体反応は唯一この

表2 Conditions that induce heme oxygenase-1

Nitric oxide
Cytokines
Shear stress
Angiogenesis
Heavy metals
Endotoxin
Hypoxia
Hyperoxia
Ultraviolet A
Heme
Heat shock
Prostaglandins
Hydrogen peroxide
Phorbol esters
Thiol scavengers (GSH depletion)
Sodium arsenite

反応だけである。この酵素は重金属 (Co, Cd)・ヘム・ステロイドホルモンあるいはプロモベンゼンなどのような低分子有機物質などにより誘導されるが、さらに酸化ストレス、虚血、低酸素症、炎症性サイトカイン、エンドトキシン、熱ショックなどによっても誘導される (表2)。HO-1の誘導は基本的には毒性の強いヘム鉄を除去することによる組織保護作用に関与していると考えられるが、最近では、HO-1誘導による炎症反応の抑制、強い抗酸化作用のある biliverdin や bilirubin による組織保護作用、free 鉄や CO による組織保護作用などが報告され注目されている (図4)<sup>31)</sup>。

HO-1による抗炎症作用の詳細は不明であるが、最近になりその多彩な作用が明らかになりつつある。HO-1に白血球-血管内皮相互作用を制御することによる抗炎症作用が知られているが、この作用には biliverdin や CO ではなく、bilirubin が主に作用している<sup>32,33)</sup>。血管内皮表面上の接着分子 VCAM-1 や E-selectin の発現抑制は bilirubin 処理によっても HO-1 と同様に確認され、ともに転写因子 NF- $\kappa$ B 活性化抑制を介している<sup>33)</sup>。bilirubin による NF- $\kappa$ B 抑制化のメカニズムは明らかでない。血管内皮細胞に対する作用とは異なり、HO-1の単球、マクロファージ系細胞に対する作用は主にCOを介しているようである。Otterbeinら<sup>34)</sup>は、CO

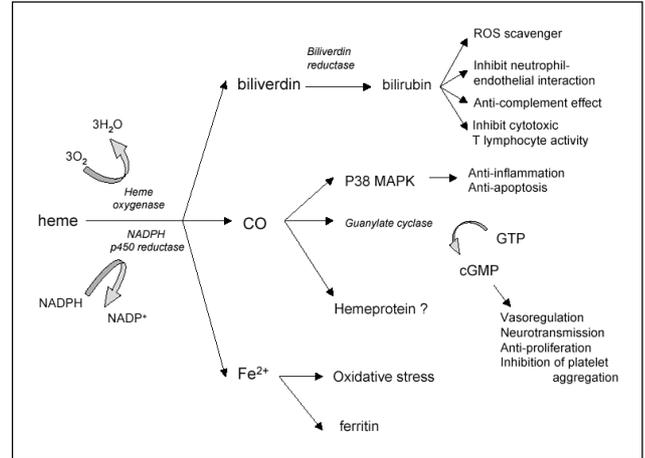


図4 ヘムオキシゲナーゼとそのproducts (carbon monoxide, biliverdin, Fe) の生体作用 (文献31)より引用)

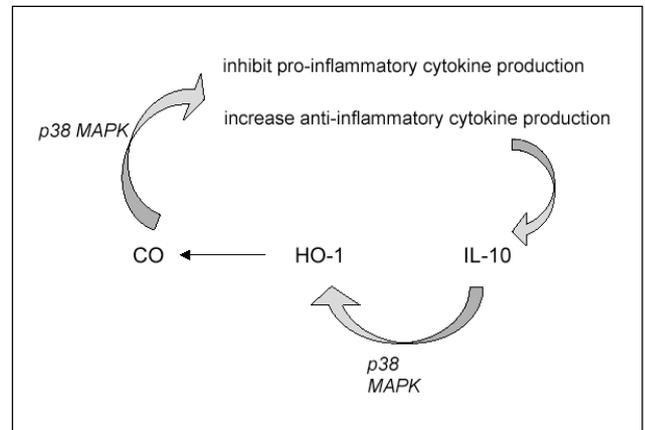


図5 ヘムオキシゲナーゼ1の抗炎症作用とIL-10 (文献31)より引用)

の抗炎症作用はp38 MAPKシグナル系を介した反応であることを明らかにしている。LPSに刺激されたマクロファージはTNF- $\alpha$ 、IL-1、MIF-1などの向炎症性サイトカインを産生するが、CO処理はこれらサイトカイン産生を抑制するだけでなく、抗炎症性サイトカインIL-10産生を増加させ、*in vivo*、*in vitro*において抗炎症作用を発揮する (図5)。

炎症性腸疾患とHOあるいはCOとの関わりについての詳細な検討は少ない。TNBS大腸炎モデルでの検討では、HO-1はTNBS注腸2時間後には血管内皮、腸管上皮、筋層平滑筋に発現が増加し、24時間後には粘膜下層に浸潤した炎症細胞に著明な発現が確認されている<sup>35)</sup>。HO阻害剤である tin mesoporphyrin (SnPP)の投与は腸炎を悪化させることより、本モデルにおいてはHO-1の誘導は組織保護的に作用していると考えら

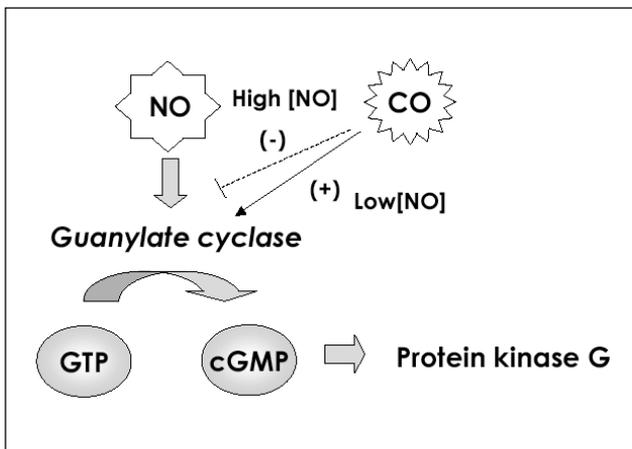


図6 NOとCOの共通second messengerとしてのsoluble guanylate cyclase  
(文献36)より引用)

れている。さらに、直接的にCOガスをラットに吸入させたところ、大腸炎が抑制されることも報告されている。最近、われわれはマウスDSS大腸炎モデルを用いてHO-1の役割を検討している。DSS投与3日後にはHO-1発現が誘導され、その発現は経時的に増強し、腸管内CO濃度も著明に増加していた。また、HO阻害剤であるZn protoporphyrin (ZnPP)の投与は、Disease activity indexを有意に増加させ、死亡率も有意に増加していた。本モデルにおいても誘導されるHO-1は組織保護的に作用していると考えられ、食品成分を含め種々の因子で誘導されることが解明されており、HO-1を標的としたトランスレーショナルリサーチを展開したいと考えている。

### iNOS-NO系とHO-CO系の相互作用

NOとCOはともにsoluble guanylate cyclase (sGC)を活性化することによりcGMPをsecond messengerとして利用している(図6)。それゆえ、これらガス状メディエーターはsGC/cGMPの関与するような、神経伝達、血管弛緩、平滑筋弛緩、気管支拡張、血小板凝集などの反応に関与している。ただし、COのsGC活性化能はNOの30-100分の1程度とされている。しかし、肝臓の微小循環のようにeNOS由来NOが存在しないような環境下では、COによるsGC活性化、cGMP産生が血流維持に極めて重要な作用をしている。われわれは、DSS腸炎モデルを用いてNO/COの相互関係について興味ある成績を得ている。DSS腸炎ではiNOSが誘導され大量のNOが産生されていることはすでに述べたが、この動物モデルにおいてHO-1阻害剤を投与する

と、NOレベルには影響が見られないのに対し、粘膜内cGMPレベルが増加することを見出した。この結果は、大量のNOが存在するような環境下では、HO-1由来COはNOによるsGC活性化を逆に抑制している可能性を示すものであり、その詳細を検討中である。この現象は、Kajimuraら<sup>36)</sup>により詳細に検討されており、sGCの活性中心であるhemeに対する結合の違いに由来している。NOは5配位によりnitrosyl heme complexを、COは6配位によりheme complexを形成することが、sGC活性化機構の違いを生じており、NO存在下ではCOはNOの作用と拮抗する。cGMPは腸粘膜細胞の生理機能にも大きな影響を与えており、特に種々のイオンチャネルの活性化の面からの検討も必要である。

### 文 献

- 1) Suzuki K, Sugimura K, Hasegawa K, Yoshida K, Suzuki A, Ishizuka K, Ohtsuka K, Honma T, Narisawa R, Asakura H: Activated platelets in ulcerative colitis enhance the production of reactive oxygen species by polymorphonuclear leukocytes. *Scand J Gastroenterol*, 36: 1301-1306, 2001.
- 2) Naito Y, Takagi T, Handa O, et al: Role of superoxide and lipid peroxidation in the pathogenesis of dextran sulfate sodium-colitis in mice. *ITE Letters*, 2: 663-667, 2001.
- 3) Kruidenier L, van Meeteren ME, Kuiper I, Jaarsma D, Lamers CB, Zijlstra FJ, Verspaget HW: Attenuated mild colonic inflammation and improved survival from severe DSS-colitis of transgenic Cu/Zn-SOD mice. *Free Radic Biol Med*, 34: 753-765, 2003.
- 4) Kriegelstein CF, Cerwinka WH, Laroux FS, Salter JW, Russell JM, Schuermann G, Grisham MB, Ross CR, Granger DN: Regulation of murine intestinal inflammation by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: divergent roles of superoxide and nitric oxide. *J Exp Med*, 194: 1207-1218, 2001.
- 5) Yoshikawa T, Yamaguchi T, Yoshida N, Yamamoto H, Kitazumi S, Takahashi S, Naito Y, Kondo M: Effect of Z-103 on TNB-induced colitis in rats. *Digestion*, 58: 464-468, 1997.
- 6) Kishimoto S, Haruma K, Tari A, Sakurai K, Nakano M, Nakagawa Y: Rebamipide, an antiulcer drug, prevents DSS-induced colitis formation in rats. *Dig Dis Sci*, 45: 1608-1616, 2000.

- 7) Makiyama K, Takeshima F, Kawasaki H, Zea-Iriarte WL: Anti-inflammatory effect of rebamipide enema on proctitis type ulcerative colitis: a novel therapeutic alternative. *Am J Gastroenterol*, 95: 1838-1839, 2000.
- 8) Kimura I, Kawasaki M, Matsuda A, Kataoka M, Kokurba Y: Effects of BX661A, a new therapeutic agent for ulcerative colitis, on chemotaxis and reactive oxygen species production in polymorphonuclear leukocytes in comparison with salazosulfapyridine and its metabolite sulfapyridine. *Arzneimittelforschung*, 48: 1163-1167, 1998.
- 9) Kimura I, Kawasaki M, Nagahama S, Matsuda A, Kataoka M, Kokuba Y: Determination of the active moiety of BX661A, a new therapeutic agent for ulcerative colitis, by studying its therapeutic effects on ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium in rats. *Arzneimittelforschung*, 48: 1091-1096, 1998.
- 10) Yoshida N, Yoshikawa T, Yamaguchi T, Naito Y, Tanigawa T, Murase H, Kondo M: A novel water-soluble vitamin E derivative protects against experimental colitis in rats. *Antioxid Redox Signal*, 1: 555-562, 1999.
- 11) Naito Y, Takagi T, Matsuyama K, et al: Effect of a novel water-soluble vitamin E derivative, 2-( $\alpha$ -D-glucopyranoyl)methyl-2,5,7,8-tetramethylchroman-6-ol, on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *J Clin Biochem Nutr*, 31: 59-67, 2002.
- 12) Naito Y, Takagi T, Ishikawa T, Handa O, Matsumoto N, Yagi N, Matsuyama K, Yoshida N, Yoshikawa T, Kotake Y:  $\alpha$ -Phenyl-N-tert-butyl nitron provides protection from dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Antioxid Redox Signal*, 4: 195-206, 2002.
- 13) Neurath MF, Fuss I, Schurmann G, Pettersson S, Arnold K, Muller-Lobeck H, Strober W, Herfarth C, Buschenfelde KH: Cytokine gene transcription by NF-kappa B family members in patients with inflammatory bowel disease. *Ann NY Acad Sci*, 859: 149-159, 1998.
- 14) Neurath MF, Pettersson S, Meyer zBKH, Strober W: Local administration of antisense phosphorothioate oligonucleotides to the p65 subunit of NF-kappa B abrogates established experimental colitis in mice. *Nat Med*, 2: 998-1004, 1996.
- 15) Conner EM, Brand S, Davis JM, Laroux FS, Palombella VJ, Fuseler JW, Kang DY, Wolf RE, Grisham MB: Proteasome inhibition attenuates nitric oxide synthase expression, VCAM-1 transcription and the development of chronic colitis. *J Pharmacol Exp Ther*, 282: 1615-1622, 1997.
- 16) Takagi T, Naito Y, Tomatsuri N, Handa O, Ichikawa H, Yoshida N, Yoshikawa T: Pioglitazone, a PPAR-gamma ligand, provides protection from dextran sulfate sodium-induced colitis in mice in association with inhibition of the NF-kappa B-cytokine cascade. *Redox Rep*, 7: 283-289, 2002.
- 17) Su CG, Wen X, Bailey ST, Jiang W, Rangwala SM, Keilbaugh SA, Flanigan A, Murthy S, Lazar MA, Wu GD: A novel therapy for colitis utilizing PPAR-gamma ligands to inhibit the epithelial inflammatory response. *J Clin Invest*, 104: 383-389, 1999.
- 18) Lewis JD, Lichtenstein GR, Stein RB, Deren JJ, Judge TA, Fogt F, Furth EE, Demissie EJ, Hurd LB, Su CG, Keilbaugh SA, Lazar MA, Wu GD: An open-label trial of the PPAR-gamma ligand rosiglitazone for active ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*, 96: 3323-3328, 2001.
- 19) Singer I, Kawka DW, Scott S, Weidner JR, Mumford RA, Riehl TE, Stenson WF: Expression of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in colonic epithelium in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 111: 871-885, 1996.
- 20) Kimura H, Hokari R, Miura S, Shigematsu T, Hirokawa M, Akiba Y, Kurose I, Higuchi H, Fujimori H, Tsuzuki Y, Serizawa H, Ishii H: Increased expression of an inducible isoform of nitric oxide synthase and the formation of peroxynitrite in colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis. *Gut*, 42: 180-187, 1998.
- 21) Colon AL, Menchen LA, Hurtado O, De Cristobal J, Lizasoain I, Leza JC, Lorenzo P, Moro MA: Implication of TNF-alpha convertase (TACE/ADAM17) in inducible nitric oxide synthase expression and inflammation in an experimental model of colitis. *Cytokine*, 16: 220-226, 2001.
- 22) Naito Y, Takagi T, Handa O, Ishikawa T, Nakagawa S, Yamaguchi T, Yoshida N, Minami M, Kita M, Imanishi J, Yoshikawa T: Enhanced intestinal inflammation induced by dextran sulfate sodium in tumor necrosis factor-alpha deficient mice. *J Gastroenterol Hepatol*, 18: 560-569, 2003.
- 23) Roberts PJ, Riley GP, Morgan K, Miller R, Hunter JO,

- Middleton SJ: The physiological expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the human colon. *J Clin Pathol*, 54: 293-297, 2001.
- 24) Kankuri E, Vaali K, Knowles RG, Lahde M, Korpela R, Vapaatalo H, Moilanen E: Suppression of acute experimental colitis by a highly selective inducible nitric-oxide synthase inhibitor, N-[3-(aminomethyl)benzyl]acetamidine. *J Pharmacol Exp Ther*, 298: 1128-1132, 2001.
- 25) Naito Y, Takagi T, Ishikawa T, Handa O, Matsumoto N, Yagi N, Matsuyama K, Yoshida N, Yoshikawa T: The inducible nitric oxide synthase inhibitor ONO-1714 blunts dextran sulfate sodium colitis in mice. *Eur J Pharmacol*, 412: 91-99, 2001.
- 26) Lefer DJ, Jones SP, Girod WG, Baines A, Grisham MB, Cockrell AS, Huang PL, Scalia R: Leukocyte-endothelial cell interactions in nitric oxide synthase-deficient mice. *Am J Physiol*, 276: H1943-H1950, 1999.
- 27) Huang FP, Niedbala W, Wei XQ, Xu D, Feng GJ, Robinson JH, Lam C, Liew FY: Nitric oxide regulates Th1 cell development through the inhibition of IL-12 synthesis by macrophages. *Eur J Immunol*, 28: 4062-4070, 1998.
- 28) Wallace JL, Vergnolle N, Muscara MN, Asfaha S, Chapman K, McKnight W, Del Soldato P, Morelli A, Fiorucci S: Enhanced anti-inflammatory effects of a nitric oxide-releasing derivative of mesalamine in rats. *Gastroenterology*, 117: 557-566, 1999.
- 29) Salas A, Gironella M, Salas A, Soriano A, Sans M, Iovanna J, Pique JM, Panes J: Nitric oxide supplementation ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Lab Invest*, 82: 597-607, 2002.
- 30) Hawkes ND, Richardson C, Ch'Ng CL, Green JT, Evans BK, Williams J, Rhodes P, Rhodes J, Swift GL, Thomas GA, Hawthorne AB, Kingham JG, Mayberry JF: Enteric-release glyceryl trinitrate in active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther*, 15: 1867-1873, 2001.
- 31) Naito Y, Takagi T, Yoshikawa T: Heme oxygenase-1: a new therapeutic target for inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 20 Suppl.1: 177-184, 2004.
- 32) Vachharajani TJ, Work J, Issekutz AC, Granger DN: Heme oxygenase modulates selectin expression in different regional vascular beds. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 278: H1613-H617, 2000.
- 33) Soares MP, Seldon MP, Gregoire IP, Vassilevskaia T, Berberat PO, Yu J, Tsui TY, Bach FH: Heme oxygenase-1 modulates the expression of adhesion molecules associated with endothelial cell activation. *J Immunol*, 172: 3553-3563, 2004.
- 34) Otterbein LE, Bach FH, Alam J, Soares M, Tao Lu H, Wysk M, Davis RJ, Flavell RA, Choi AM: Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. *Nat Med*, 6: 422-428, 2000.
- 35) Wang WP, Guo X, Koo MW, Wong BC, Lam SK, Ye YN, Cho CH: Protective role of heme oxygenase-1 on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 281: G586-G594, 2001.
- 36) Kajimura M, Goda N, Suematsu M: Organ design for generation and reception of CO: lessons from the liver. *Antioxid Redox Signal*, 4: 633-637, 2002.