

# 気管支喘息における気道反応性亢進のメカニズムの 解明：実験喘息モルモットにおける 脂質メディエーターの関与について

川合右展

近畿大学医学部第4内科学教室

## 抄 録

気道反応性亢進は可逆性の気流制限や慢性気道炎症とならんで気管支喘息の主要な病態である。気管支喘息患者において気道炎症が気道反応性を亢進させることはよく知られている。これらの炎症細胞より遊離される脂質メディエーターであるロイコトリエン (LT), 血小板活性化因子 (PAF), トロンボキサン A2 (TXA2) は喘息の発症, 重症化に関与していると考えられている。本研究は, これらの脂質メディエーターである LT, PAF, TXA2 の気道反応性におよぼす影響について検討した。ovalbumin (OA) 感作モルモットでは histamine に対する気道反応性が亢進した。量的には気管支平滑筋を直接的に収縮させない程度の量 (閾値下濃度) の LT, PAF, TXA2 吸入によりその反応性はさらに亢進した。LT に対する気道収縮を TXA2 拮抗薬は抑制し, PAF に対する気道収縮を LT, TXA2 拮抗薬は抑制した。しかし TXA2 による気道収縮を LT, PAF 拮抗薬は抑制しなかった。以上より, 症状安定時にも存在する慢性気道炎症に由来する LT, PAF, TXA2 は, 気道過敏性を亢進させる重要な要因の一つであることが示唆された。また, LT はアラキドン酸カスケードのシクロオキシゲナーゼ経路を刺激するが, TXA2 は 5-リポキシゲナーゼ経路を刺激しないという方向性が考えられた。LT, PAF のいずれも TXA2 を介するが TXA2 は LT, PAF を介さず, TXA2 は喘息の重症化, 難治化を惹起する一要因と考えられた。

**Key words:** 気管支喘息, 気道反応性亢進, ロイコトリエン (LT), 血小板活性化因子 (PAF), トロンボキサン A2 (TXA2)

## 結 言

気管支喘息は, 好酸球, 肥満細胞, リンパ球などの炎症細胞が浸潤する慢性の気道炎症と気道反応性の亢進を基本病態として, 可逆性のある広範な気道狭窄をきたす疾患と定義される<sup>1</sup>。現在の治療の標的は, 気管支平滑筋収縮, 気道の慢性炎症, 気道反応性の亢進などである。気道炎症は, 好酸球浸潤が主体であるが, リンパ球, 肥満細胞の増加も認められ, 気道上皮組織での肥満細胞浸潤はその特徴とされている。気管支喘息の発症には, これらの炎症細胞から遊離される多くのケミカルメディエーターが関与し, 気道平滑筋の収縮および肥厚, 間質の浮腫, 気道上皮の剝離, 基底膜の肥厚, 血管透過性亢進が惹起され気管支喘息の病態が成立するものと考えられ

ている<sup>2-6</sup>。そのケミカルメディエーターの中でもアラキドン酸の代謝産物であるロイコトリエン (LT), 血小板活性化因子 (PAF), トロンボキサン A2 (TXA2) などの脂質メディエーターは抗原吸入誘発喘息での即時型および遅発型喘息反応に関与することが報告されている<sup>7</sup>。最近, これらの拮抗薬が喘息治療において有用であるとの報告がなされている<sup>8-10</sup>。著者は気道反応性亢進獲得にケミカルメディエーターが重要な役割を担っていると考え, ovalbumin (OA) 感作モルモットを用いて, 気道反応性亢進と脂質メディエーターの関係を検討した。

## 方 法

体重250-350 g の Hatley 系雄モルモット (日本 SLC, 生後3週) (飼育条件; 室温23±1°C, 湿度

50±5%, 照明7時-19時, 24時間空調, 餌はCG-7 (日本クレア), 給与水は水道水を使用した)を用い, 東田の方法<sup>11</sup>に準じて, 蒸留水に溶解した cyclophosphamide (塩野義製薬, 大阪) 30 mg/kg をモルモットに腹腔内注射し, 2日後に生理食塩水に溶解した OA (和光純薬工業, 大阪) 2000 µg に adjuvant として水酸化アルミニウム (Al(OH)<sub>3</sub>, 和光純薬工業, 大阪) 100 mg を加え腹腔内注射した. さらに2回目の腹腔内注射3週後に booster として OA 10 µg と水酸化アルミニウム100 mg を腹腔内注射し喘息モデルを作製した. 以下の実験は booster 投与後3週後に行った.

#### histamine 吸入による気道反応試験

上記の感作モルモットおよび同一週齢の非感作モルモットを pentobarbital sodium (Abbott Laboratories, U.S.A) 40 mg/kg の腹腔内注射で麻酔し, 内径2 mm の気管カニューレ (日本シャープウッド, 東京) を装着し, 気管カニューレから小動物用レスピレーター (Model 683, Harvard, U.S.A) で人工呼吸 (1回換気量10 ml/kg, 換気回数60/分) を行った. そして, 気管開口部圧 (airway opening pressure: PaO) を気管カニューレに連結したチューブの側枝にて差圧をトランスデューサー (日本光電, 東京) で測定し, 吸気時の peak PaO の変化を比較検討した. 非特異的気道反応を測定するため, 岩崎らの方法<sup>12</sup>に準じ, 超音波ネブライザー (NE-10, オムロン, 東京) に容積8 ml の小薬槽を取り付けた小動物用吸入用負荷装置を作製し, モルモット人工呼吸の回路に組み入れ, 人工呼吸下に生理食塩水, histamine (和光純薬工業, 大阪) 溶液4.9, 9.8, 20, 39, 78, 156 µg/ml を30秒間, 5分毎に吸入させた. 測定は吸入1分後に行った.

LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, PAF, STA<sub>2</sub> の気道収縮閾値下濃度の決定.

LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> (小野薬品工業より提供, 大阪) をエタノールと phosphate buffered saline (PBS) の 1:1 溶液に溶解し  $1 \times 10^{-9}$  M ~  $1 \times 10^{-7}$  M, PAF (フナコシ薬品, 東京) を生理食塩水に溶解し  $0.5 \times 10^{-6}$  M ~  $0.5 \times 10^{-4}$  M, STA<sub>2</sub> (ONO-11113) (TXA<sub>2</sub> 類似物, 分子量366.57, (+)-9, 11-Epithia-11, 12-methano-TXA<sub>2</sub>) (小野薬品工業より提供, 大阪) を PBS に溶解し  $1 \times 10^{-8}$  ~  $1 \times 10^{-6}$  M に希釈し生理食塩水および低濃度の各メデイエーターから1分間, 10分毎に吸入させた. 測定は吸入5分後に行った.

閾値下濃度の LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, PAF, STA<sub>2</sub> 吸入後の histamine 吸入による気道反応試験

生理食塩水吸入1時間前に生理食塩水に溶解した

0.5% carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC, 半井化学薬品, 京都) 溶液 (4 ml/kg) を経口投与した後, 閾値下濃度の LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, PAF を1分間吸入させ3分後から histamine 吸入による気道反応試験を行った. STA<sub>2</sub> に関しては気道平滑筋に対する作用時間が数分で消失するため以下の方法で行った. 感作モルモットに閾値下濃度の STA<sub>2</sub> または PBS を30秒間吸入させ, その1.5分後に生理食塩水を30秒間吸入負荷し5分間 PaO を観察する操作を4回繰り返した. 閾値下濃度の STA<sub>2</sub> または PBS 吸入1時間前に0.5% CMC 溶液を経口投与した後, STA<sub>2</sub> または PBS を30秒間吸入させ, その1.5分後に生理食塩水, histamine 溶液9.8, 39, 156 µg/ml を30秒間, 5分毎に吸入させた. 測定は生理食塩水, histamine 溶液吸入1分後に行った.

#### 各メデイエーターの関係

##### LT に対する PAF, TXA<sub>2</sub> 拮抗薬の影響

LTC<sub>4</sub> ( $1.6 \times 10^{-7}$  M), LTD<sub>4</sub> ( $2 \times 10^{-7}$  M) の3分間の吸入1時間前に LT 拮抗薬である ONO-1078 (30 mg/kg, 小野薬品より提供, 大阪), PAF 拮抗薬である Y-24180 (1 mg/kg, 吉富製薬より提供, 大阪), TXA<sub>2</sub> 拮抗薬である S-1452 (3 mg/kg, 塩野義製薬より提供, 大阪) を経口投与し, 60分後まで気道反応を測定した.

##### PAF に対する LT, TXA<sub>2</sub> 拮抗薬の影響

PAF ( $3.8 \times 10^{-4}$  M) の3分間の吸入1時間前に Y-24180 (1 mg/kg), ONO-1078 (30 mg/kg, 100 mg/kg), S-1452 (3 mg/kg) を経口投与し, 60分後まで気道反応を測定した.

##### TXA<sub>2</sub> に対する LT, PAF 拮抗薬の影響

STA<sub>2</sub> ( $0.5 \times 10^{-5}$  M) の3分間の吸入1時間前に S-1452 (3 mg/kg), ONO-1078 (30 mg/kg), Y-24180 (1 mg/kg) を経口投与し, 60分後まで気道反応を測定した.

#### 統計学的処置

すべての値は平均値±標準偏差 (mean±SD) で表した. 各群との値の差は Student's t-test 検定にて比較し,  $p < 0.05$  をもって有意とした.

## 成 績

#### histamine 吸入による気道反応試験

感作群は非感作群と比較して, 吸入ヒスタミン濃度は39, 78, 156 µg/ml レベルで気道反応性の有意の (各々, 危険度5%, 0.1%0.1%) 亢進を認めた (図1).

LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, PAF, STA<sub>2</sub> の気道収縮閾値下濃度の決定

LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>

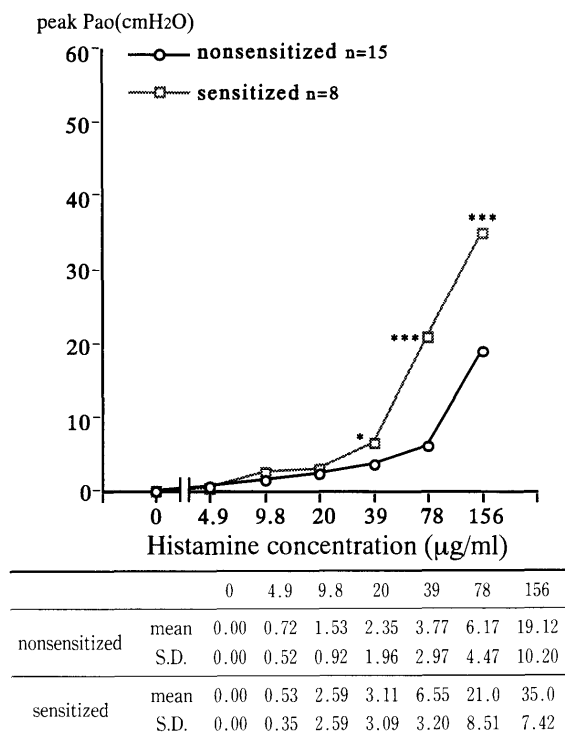


図1 ヒスタミンによる気道反応  
感作群は非感作群と比較し吸入ヒスタミン濃度39, 78, 156 µg/mlで気道反応性の亢進を認めた (\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05)

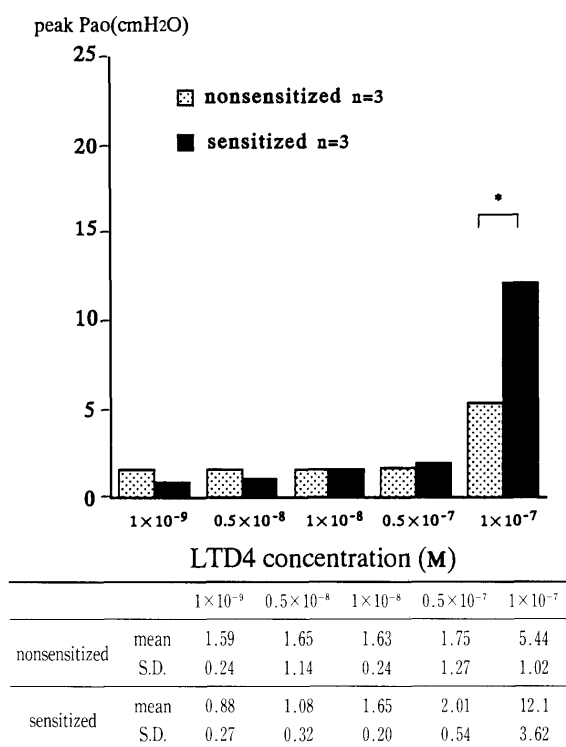


図2-B LTD4の閾値下濃度  
閾値下濃度は非感作, 感作モルモットとも0.5×10<sup>-7</sup> Mで, 1×10<sup>-7</sup> Mで有意差を認めた (\*p<0.05)

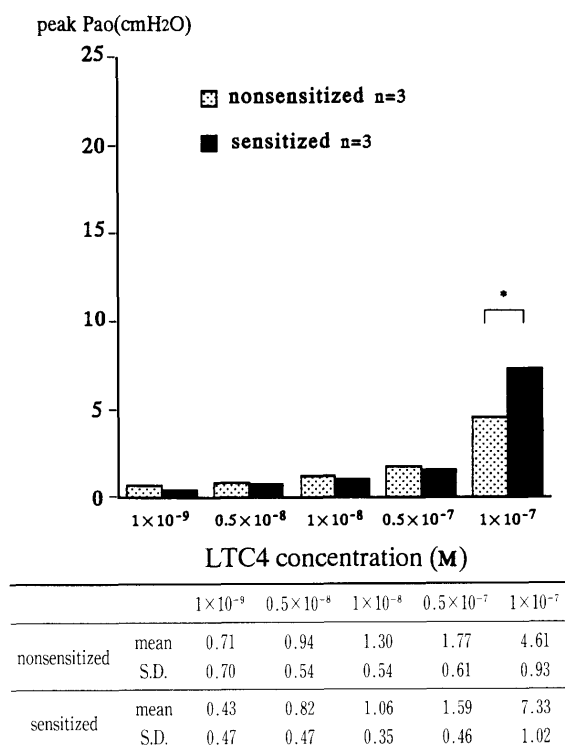


図2-A LTC4の閾値下濃度  
閾値下濃度は非感作, 感作モルモットとも0.5×10<sup>-7</sup> Mで, 1×10<sup>-7</sup> Mで有意差を認めた (\*p<0.05)

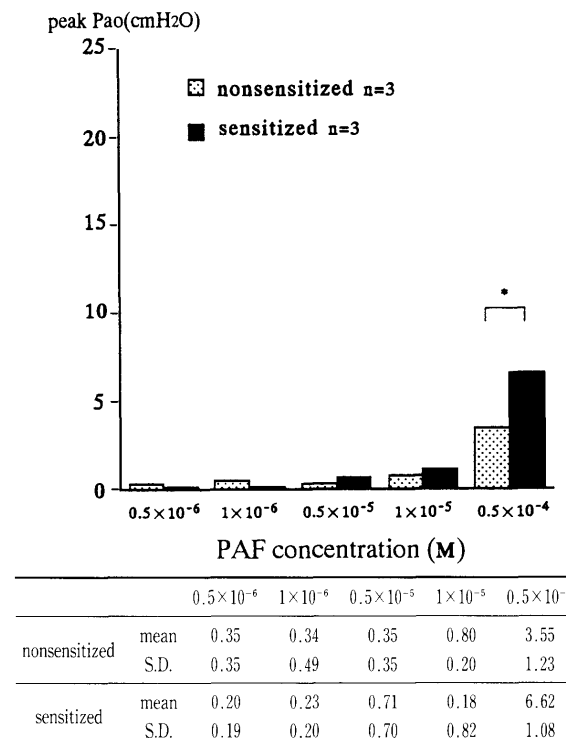


図2-C PAFの閾値下濃度  
閾値下濃度は非感作, 感作モルモットとも1×10<sup>-5</sup> Mで, 0.5×10<sup>-4</sup> Mで有意差を認めた (\*p<0.05)

閾値下濃度は非感作，感作モルモットとも  $0.5 \times 10^{-7}$  M であり， $1 \times 10^{-7}$  M では感作モルモットが有意（危険度 5%）に高い peak Pao を示した（図 2-A, B）。

PAF

閾値下濃度は非感作，感作モルモットとも  $1 \times 10^{-5}$  M であり， $0.5 \times 10^{-4}$  M では感作モルモットが有意（危険度 5%）に高い peak Pao を示した（図 2-C）。

STA2

閾値下濃度は非感作，感作モルモットとも  $0.5 \times 10^{-6}$  M であった（図 3）。Peak Pao は感作モルモットで高かったが有意差は認められなかった。

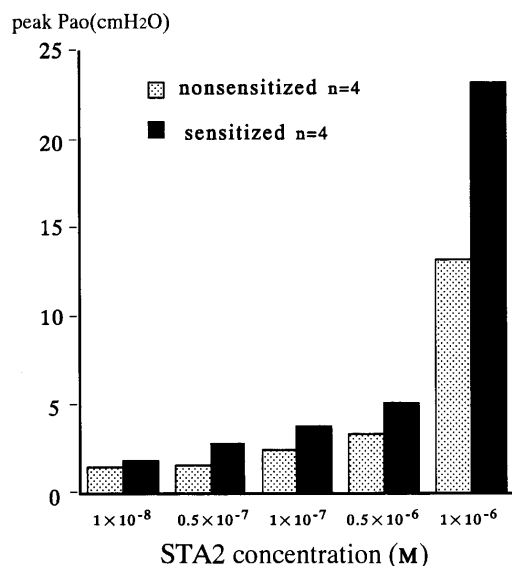
閾値下濃度の LTC4, LTD4, PAF, STA2 吸入後の histamine 吸入による気道反応試験

LTC4

非感作モルモットと比較して，非感作吸入群ではヒスタミン 78, 156  $\mu\text{g/ml}$  で，感作吸入群ではヒスタミン 39, 78, 156  $\mu\text{g/ml}$  で，有意に気道反応性が亢進した（図 4）。

LTD 4

非感作モルモットと比較して，非感作吸入群ではヒスタミン 156  $\mu\text{g/ml}$  で，感作吸入群ではヒスタミン 39, 78, 156  $\mu\text{g/ml}$  で，有意に気道反応性が亢進し



		$0.5 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6}$	$0.5 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-5}$	$0.5 \times 10^{-4}$
nonsensitized	mean	1.53	1.59	2.47	3.38	13.3
	S.D.	2.36	1.77	2.62	3.44	5.66
sensitized	mean	1.89	2.84	3.81	5.14	23.2
	S.D.	0.41	0.58	0.88	1.57	18.2

図 3 STA2 の閾値下濃度  
閾値下濃度は非感作，感作モルモットとも  $0.5 \times 10^{-6}$  M であった

た（図 5）。

PAF

非感作モルモットと比較して，非感作吸入群ではヒスタミン 156  $\mu\text{g/ml}$  で，感作吸入群ではヒスタミン 78, 156  $\mu\text{g/ml}$  で，有意に気道反応性が亢進した（図 6）。

STA2

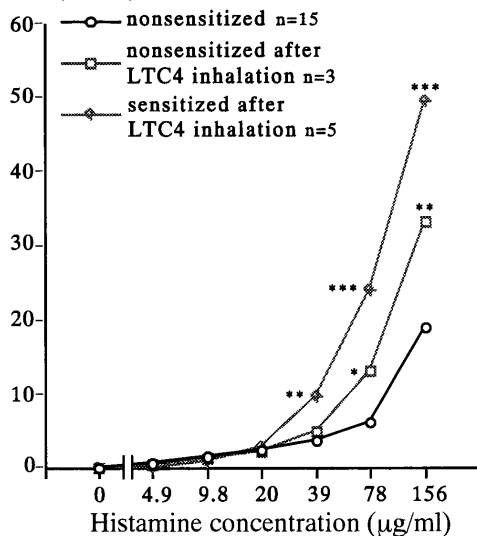
STA2 を連続 4 回吸入させても PBS と比較し気道抵抗の増加は認められなかった。非感作モルモットと比較して，非感作吸入群ではヒスタミン 156  $\mu\text{g/ml}$  で，感作吸入群ではヒスタミン 39, 156  $\mu\text{g/ml}$  で，有意に気道反応性が亢進した（図 7）。

LT に対する PAF, TXA2 拮抗薬の影響

ONO-1078 前投与による LTC4 による気道収縮は，吸入後 1~10 分まで，S-1452 前投与では吸入後 1, 3 分まで有意に抑制した（図 8）。ONO-1078, S-1452 前投与による LTD4 による気道収縮は，1~20 分まで有意に抑制した（図 9）。

PAF に対する LT, TXA2 拮抗薬の影響

Y-24180, S-1452, ONO-1078 100 mg/kg 前投与  
peak Pao(cmH2O)



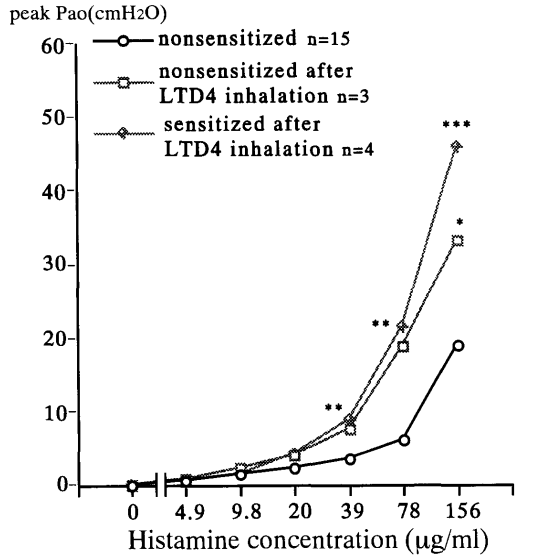
		0	4.9	9.8	20	39	78	156
nonsensitized	mean	0.00	0.72	1.53	2.35	3.77	6.17	19.12
	S.D.	0.00	0.52	0.92	1.96	2.97	4.47	10.20
nonsensitized after LTC4 inhalation	mean	0.00	0.58	1.31	2.12	4.98	13.31	33.37
	S.D.	0.00	0.40	0.65	0.60	4.08	8.24	3.17
sensitized after LTC4 inhalation	mean	0.00	0.12	0.98	2.82	9.86	24.18	49.52
	S.D.	0.00	0.12	0.81	1.38	7.74	16.85	2.34

図 4 閾値下濃度の LTC4 吸入後のヒスタミンによる気道反応  
非感作モルモットと比較し非感作吸入群ではヒスタミン 78, 156  $\mu\text{g/ml}$  で感作吸入群ではヒスタミン 39, 78, 156  $\mu\text{g/ml}$  で気道反応性の亢進を認めた  
(\*\* $p < 0.01$ , \*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ )

による PAF による気道収縮は吸入後 1～60 分まで全体にわたり有意に抑制した (図10).

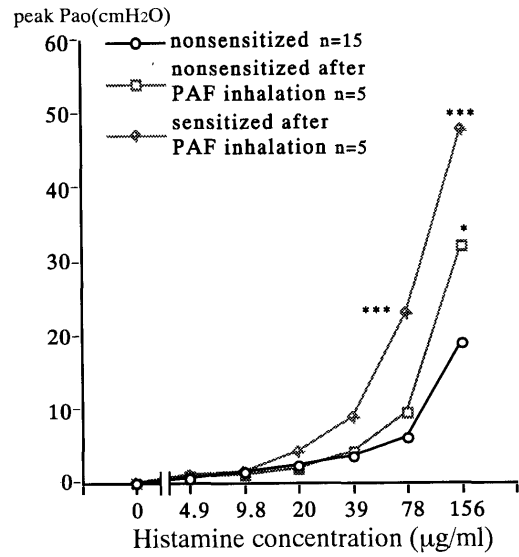
STA2 に対する LT, PAF 拮抗薬の影響

S-1452 前投与による STA2 による気道収縮は、吸入後 1, 3 分まで有意に抑制した (図11).



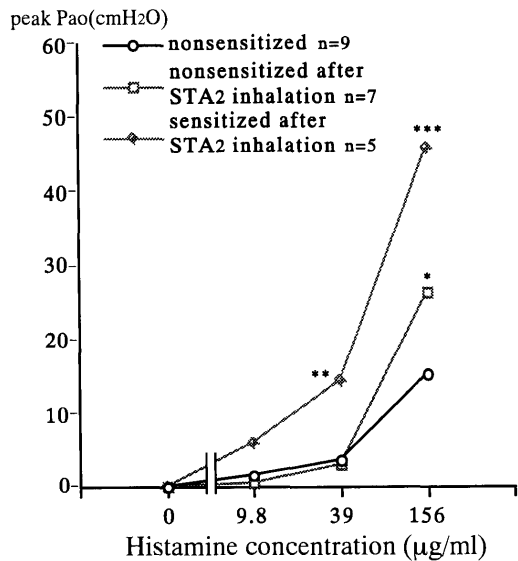
		0	4.9	9.8	20	39	78	156
nonsensitized	mean	0.00	0.72	1.53	2.35	3.77	6.17	19.12
	S.D.	0.00	0.52	0.92	1.96	2.97	4.47	10.20
nonsensitized after LTD4 inhalation	mean	0.00	0.90	2.34	4.05	7.62	18.90	33.37
	S.D.	0.00	0.58	1.83	1.33	3.66	11.46	6.47
sensitized after LTD4 inhalation	mean	0.00	0.69	1.53	4.38	8.97	21.75	46.03
	S.D.	0.00	0.32	0.20	1.34	3.25	16.35	5.62

図5 閾値下濃度の LTD4 吸入後のヒスタミンによる気道反応  
非感作モルモットと比較し非感作吸入群ではヒスタミン156 µg/ml で感作吸入群ではヒスタミン39, 78, 156 µg/ml で気道反応性の亢進を認めた  
(\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05)



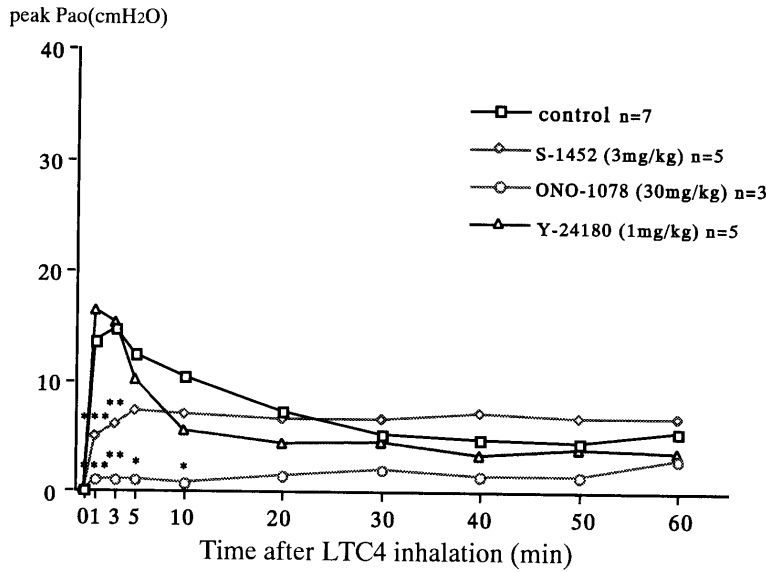
		0	4.9	9.8	20	39	78	156
nonsensitized	mean	0.00	0.72	1.53	2.35	3.77	6.17	19.12
	S.D.	0.00	0.52	0.92	1.96	2.97	4.47	10.20
nonsensitized after PAF inhalation	mean	0.00	1.04	1.19	2.05	4.26	9.59	32.16
	S.D.	0.00	0.80	1.19	1.84	2.83	3.61	4.84
sensitized after PAF inhalation	mean	0.00	1.22	1.49	4.38	9.07	23.07	47.95
	S.D.	0.00	0.89	1.49	4.38	9.00	9.41	6.96

図6 閾値下濃度の PAF 吸入後のヒスタミンによる気道反応  
非感作モルモットと比較し非感作吸入群ではヒスタミン156 µg/ml で感作吸入群ではヒスタミン78, 156 µg/ml で気道反応性の亢進を認めた  
(\*\*\*p<0.001, \*p<0.05)



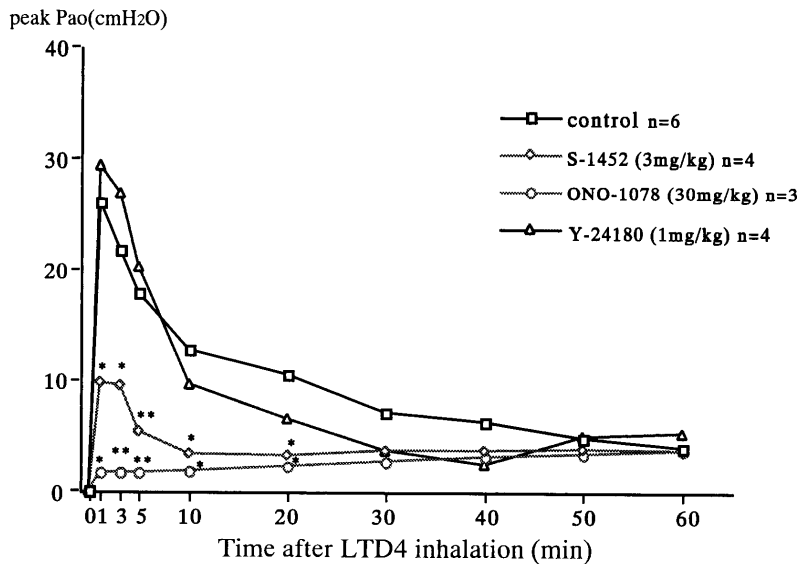
		0	9.8	39	156
sensitized	mean	0.00	1.66	3.63	15.2
	S.D.	0.00	0.93	2.88	5.65
nonsensitized after STA2 inhalation	mean	0.00	0.50	3.01	26.2
	S.D.	0.00	0.39	3.01	13.2
sensitized after STA2 inhalation	mean	0.00	6.10	14.5	45.8
	S.D.	0.00	6.10	8.86	12.0

図7 閾値下濃度の STA2 吸入後のヒスタミンによる気道反応  
非感作モルモットと比較し非感作吸入群ではヒスタミン156 µg/ml で感作吸入群ではヒスタミン39, 156 µg/ml で気道反応性の亢進を認めた  
(\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05)



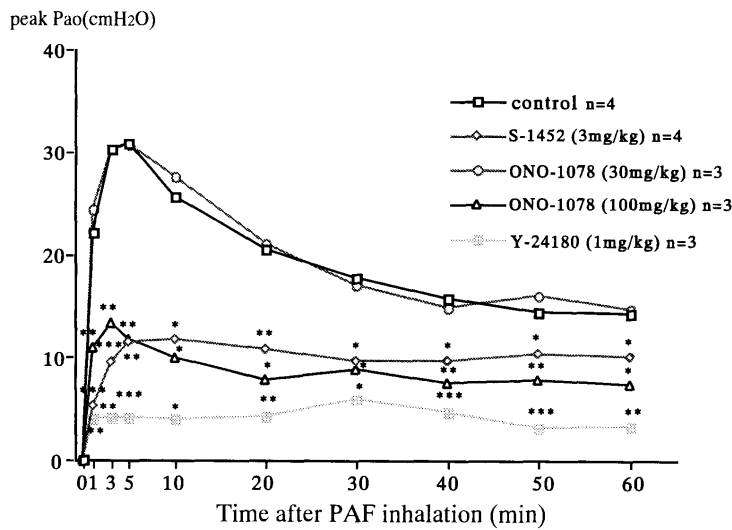
		0	1	3	5	10	20	30	40	50	60
sensitized	mean	0.00	13.4	14.5	12.2	10.3	7.26	5.13	4.75	4.46	5.36
	S.D.	0.00	2.63	4.48	5.52	4.69	3.84	2.40	2.64	2.34	3.48
sensitized before S-1452 P.O.	mean	0.00	4.82	5.94	7.26	6.97	6.60	6.52	7.11	6.67	6.65
	S.D.	0.00	1.61	2.97	3.13	3.82	3.87	3.72	3.76	4.00	3.93
sensitized before ONO-1078 P.O.	mean	0.00	0.98	1.04	1.00	0.77	1.52	2.05	1.46	1.43	3.06
	S.D.	0.00	0.62	0.53	0.26	0.47	0.81	1.19	1.32	1.05	1.37
sensitized before Y-24180 P.O.	mean	0.00	16.3	15.1	10.0	5.36	4.24	4.48	3.34	3.91	3.37
	S.D.	0.00	8.94	6.59	4.18	5.11	4.20	4.19	2.24	2.01	2.75

図8 S-1452, ONO-1078, Y-24180 前投与後のLTC4による気道反応  
LTC4による気道収縮をONO-1078前投与で1~10分, S-1452前投与では1, 3分で抑制した (\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05)



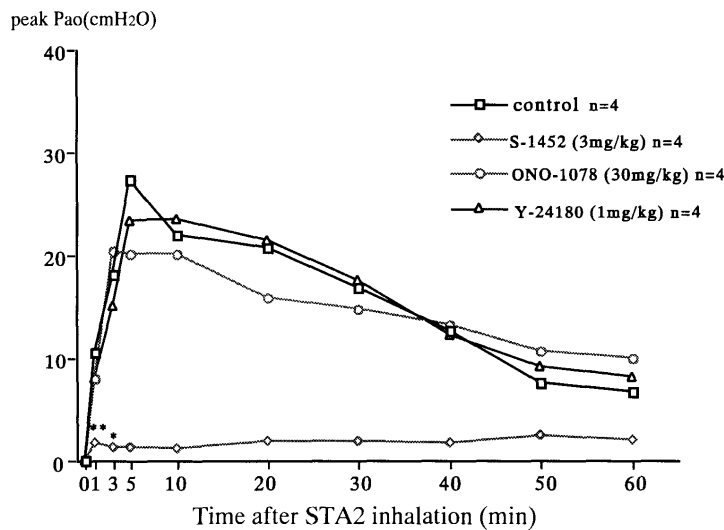
		0	1	3	5	10	20	30	40	50	60
sensitized	mean	0.00	26.0	21.8	17.8	12.7	10.5	7.15	6.25	4.82	3.95
	S.D.	0.00	12.2	9.03	6.22	5.12	4.05	5.29	5.07	2.81	3.50
sensitized before S-1452 P.O.	mean	0.00	9.79	9.56	5.42	3.51	3.32	3.67	3.76	3.93	3.67
	S.D.	0.00	7.50	4.92	3.61	3.34	3.30	3.60	3.70	3.90	3.60
sensitized before ONO-1078 P.O.	mean	0.00	1.71	1.71	1.75	1.94	2.29	2.75	3.14	3.41	3.79
	S.D.	0.00	1.22	0.99	0.97	0.77	0.49	0.08	0.33	0.20	0.65
sensitized before Y-24180 P.O.	mean	0.00	29.3	26.8	20.2	9.59	6.56	3.72	2.39	4.97	5.32
	S.D.	0.00	5.12	7.70	10.5	1.47	1.31	0.68	2.30	4.37	4.79

図9 S-1452, ONO-1078, Y-24180 前投与後のLTD4による気道反応  
LTD4による気道収縮をONO-1078, S-1452とも1~20分抑制した (\*\*p<0.01, \*p<0.05)



		0	1	3	5	10	20	30	40	50	60
sensitized	mean	0.00	22.1	30.3	30.8	25.6	20.5	17.6	15.7	14.3	14.2
	S.D.	0.00	4.31	5.85	7.46	9.16	4.88	4.25	2.43	1.53	2.17
sensitized before S-1452 P.O.	mean	0.00	5.32	9.56	11.5	11.8	10.7	9.62	9.67	10.3	10.0
	S.D.	0.00	1.47	0.94	2.29	2.43	1.54	2.75	2.30	2.40	1.95
sensitized before ONO-1078 (30 mg/kg) P.O.	mean	0.00	24.3	30.1	30.7	27.5	21.1	17.0	14.9	15.9	14.7
	S.D.	0.00	9.42	17.2	17.1	12.9	10.0	6.16	2.89	2.98	1.89
sensitized before ONO-1078 (100 mg/kg) P.O.	mean	0.00	10.8	13.2	11.8	9.94	7.81	8.75	7.57	7.81	7.33
	S.D.	0.00	1.47	1.78	1.82	0.71	4.31	3.57	2.28	2.56	1.47
sensitized before Y-24180 P.O.	mean	0.00	3.93	4.16	4.16	4.05	4.32	5.96	4.62	3.19	3.34
	S.D.	0.00	2.51	2.30	2.30	1.75	1.77	4.14	1.31	2.35	2.57

図10  
S-1452, ONO-1078, Y-24180  
前投与後の PAF による気道  
反応  
PAF による気道収縮を Y-  
24180, S-1452, ONO-1078  
100 mg/kg 前投与で 1~60  
分にわたり抑制した  
(\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*  
p<0.05)



		0	1	3	5	10	20	30	40	50	60
sensitized	mean	0.00	13.4	14.5	12.2	10.3	7.26	5.13	4.75	4.46	5.36
	S.D.	0.00	2.63	4.48	5.52	4.69	3.84	2.40	2.64	2.34	3.48
sensitized before S-1452 P.O.	mean	0.00	1.17	1.35	1.35	1.25	1.94	1.95	1.76	2.49	2.05
	S.D.	0.00	0.28	0.58	0.51	0.40	1.33	1.20	1.34	1.30	0.72
sensitized before ONO-1078 P.O.	mean	0.00	7.93	20.3	20.1	20.1	15.8	14.7	13.2	10.6	9.94
	S.D.	0.00	3.05	18.6	16.3	14.5	9.69	12.0	3.91	2.84	1.42
sensitized before Y-24180 P.O.	mean	0.00	7.89	15.0	23.3	23.5	21.3	17.5	12.2	9.14	8.16
	S.D.	0.00	3.62	8.98	13.6	11.5	9.17	9.44	6.43	3.01	2.13

図11  
S-1452, ONO-1078, Y-24180  
前投与後の STA2 による気道  
反応  
STA2 による気道収縮を S-  
1452 は 1, 3分で抑制した  
(\*\*p<0.01, \*p<0.05)

## 考 察

気道反応性とは、さまざまな外因性および内因性刺激に対して気道が反応する度合いのことであり、気道反応性亢進は可逆性の気流制限や慢性気道炎症とならんで気管支喘息の主要な病態である。近年国内外で発表された喘息の診断と治療に関するガイドラインでも、定義の中に気道過敏性と気道炎症との関係が記載されており<sup>1</sup>、気道反応を規定する因子は、遺伝による先天的因子と気道炎症や気道壁の構造変化などの後天的因子に分けられる。気道炎症が気道反応性を亢進させることは、喘息患者で気道炎症と気道反応性が関連すること<sup>1</sup>、動物モデルでは抗原などで気道炎症を起こすと一過性に反応性が亢進すること<sup>13</sup>、ステロイド治療で気道炎症を改善させると反応性も軽快することなどより推察される<sup>14</sup>。気道炎症にはケミカルメディエーターと称される細胞間の情報伝達物質が強く関与していると考えられている。なかでも脂質メディエーターであるLT、PAF、TXA2は喘息の発症、重症化に重要な役割を担っている。LTはアラキドン酸の代謝産物で細胞膜の正常な構成成分である遊離アラキドン酸に5-リポキシゲナーゼが作用して生ずるLTA4が、LT類の起源になる(図12)。LTA4はLTA4加水分解酵素によりLTB4へ、LTC4合成酵素によりLTC4となる。LTC4は $\gamma$ -glutamyl transpeptidaseによりLTD4

に、さらに dipeptidase により LTE4 へと代謝される。この LTC4、LTD4、LTE4 が slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) の構成成分である。これら LT の主要な作用は平滑筋の収縮、血管透過性の亢進、気道の粘液分泌の亢進<sup>15,16</sup> などである。またモルモットの回腸平滑筋を用いた in vitro の試験では SRS-A がヒスタミンへの収縮反応を増強したことが報告されている。喘息患者において LTC4、LTD4、LTE4 吸入 4 時間後にヒスタミン反応性が約 3~4 倍増加したことが指摘されている<sup>17</sup>。このヒスタミン反応性の増大の程度は、抗原吸入暴露後の観察結果と類似している<sup>18,19</sup>。しかし、臨床では LT の過敏性に対する関与については否定的なものが多い<sup>20</sup>。一方、実験動物では、イヌおよびモルモットの抗原暴露時に引き起こされる気道過敏性に対して、LT 受容体拮抗薬もしくは産生抑制薬はこれを抑制するという報告もある<sup>21,22</sup>。細胞膜リン脂質からアラキドン酸が切り出され、さらにシクロオキシゲナーゼによってプロスタグランジン G2、PGH2 となり TX 合成酵素によって TXA2 が産生される。TXA2 の半減期は非常に短く、約 30 秒で TXB2 に代謝される。TXA2 は血小板から多く産生されると考えられているが、マクロファージや好中球からも産生されることが知られている。TXA2 は気道平滑筋収縮作用、気道過敏性亢進作用、血管透過性亢進作用、気道分泌亢進作用、粘液線毛機能抑

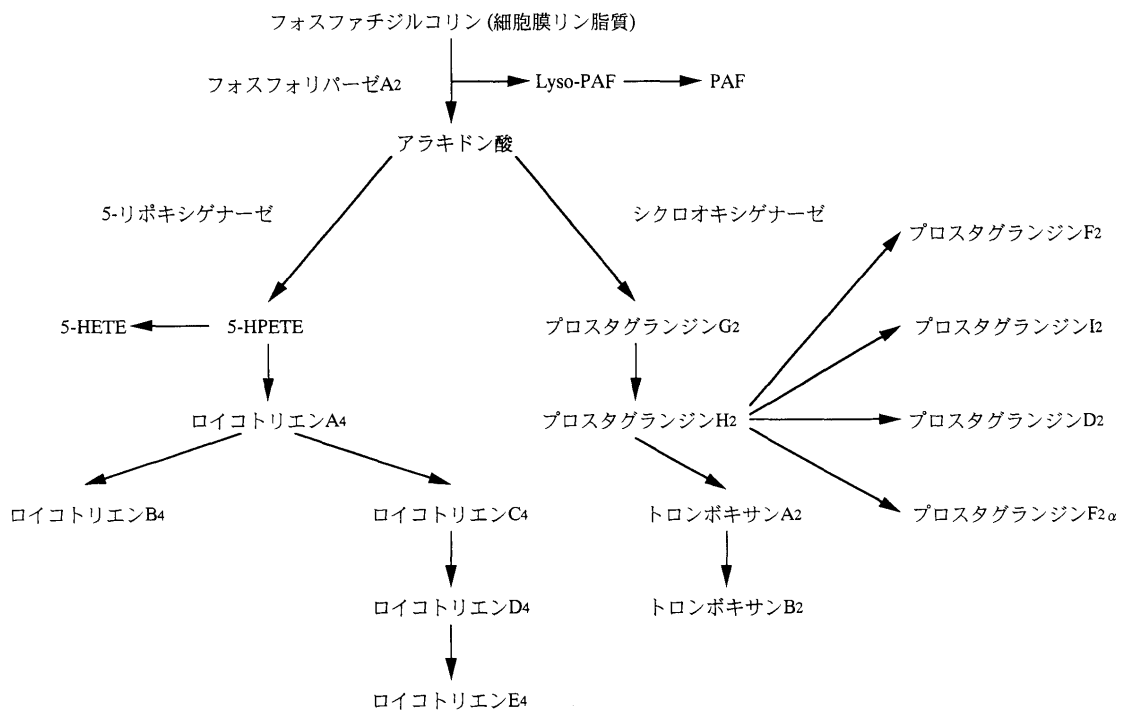


図12 アラキドン酸カスケード



制作用および気道炎症の増悪因子としても作用する可能性をもち気管支喘息において認められるさまざまな病態を形成させる。Fujimura らの、TXA2 合成阻害薬である塩酸オザグレルは努力肺活量 (FVC) や FEV<sub>1</sub> などの呼吸機能は変化しないものの、気道過敏性を有意に改善させたという報告や<sup>23</sup>、TXA2 受容体拮抗薬である BAYu3405, S-1452 が気道過敏性を改善させたという報告もある<sup>24</sup>。著者の成績から考えると、喘息患者において、症状安定時にも存在する慢性気道炎症に由来する TXA2 は、量的には気管支平滑筋を直接的に収縮させない程度の量 (閾値下濃度) ではあるが、気道過敏性を亢進させる重要な要因の一つであることが示唆された。TXA2 が気道過敏性を亢進させるメカニズムは明かではないが、コリン作動性副交感神経からのアセチルコリンの遊離を節前性に増強することが一因であると考えられる。ある種の刺激によってホスホリパーゼ A<sub>2</sub> が活性化されると細胞膜リン脂質より lyso-PAF が遊離される。lyso-PAF は PAF の持つ生物学的活性を有していないが、この lyso-PAF にアセチルトランスフェラーゼが作用して PAF が産生される。PAF は多様な生物活性を持ち、喘息時の気道炎症でみられる粘膜浮腫、好中球、血小板、好酸球の集積、気管支上皮の損傷、気道収縮などが PAF の作用である。PAF により活性化された炎症細胞は様々な生理活性物質を産生あるいは遊離する<sup>2</sup>。好中球から活性酸素、LTB<sub>4</sub>、マクロファージから活性酸素、LTB<sub>4</sub>、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  が、好酸球から MBP (major basic protein) や ECP (eosinophil cationic protein) が遊離し、気道上皮を剥離させ、気道反応性の亢進を誘発する<sup>2-4</sup> という報告の一方、PAF により活性化された血小板により PDGF (platelet-derived growth factor) が遊離され、気道平滑筋の過形成を誘発し気道反応性の亢進に関係するという報告もある<sup>25</sup>。PAF を単回吸入させた後、メサコリン吸入による呼吸機能検査を行って気道過敏性の変化を追跡すると、健常者と喘息患者ともに PAF 吸入により気道過敏性の亢進が認められ、1~3 日で最大となり、2~4 週間持続する<sup>26</sup>。しかし、PAF は *in vitro* においてヒトやモルモットの気道平滑筋を直接収縮しないと報告されている<sup>27</sup>。これらの脂質メデエーターは気道反応性亢進に関与すると示唆された。村木らの報告では感作成立時の気道反応に TXA<sub>2</sub>、PAF は関与したが LT は明らかでないとしている<sup>13</sup>。そこで今回これらの脂質メデエーターの閾値下濃度の吸入により慢性の喘息を再現し、気道反応性におよぼす影響について検討した。LTC<sub>4</sub>、LTD<sub>4</sub>、PAF、TXA<sub>2</sub> いずれの吸入によっても非感

作、感作モルモットとも気道反応性が亢進し、これらメデエーターが気道反応性に関与すると考えられた。LT、PAF、TXA<sub>2</sub> の相互作用については1980年代より検討されており、LT による気道収縮がシクロオキシゲナーゼの阻害剤であるインドメサシンやアスピリンの前処置により抑制されるという報告がある<sup>28,29</sup>。一方、増強するという報告もある<sup>24,30</sup>。また LT が TXA<sub>2</sub> を誘導するか否か、PAF が TXA<sub>2</sub> を誘導するか否か、LT や TXA<sub>2</sub> が PAF を誘導するか否かについても一定の見解が得られていない<sup>30-35</sup>。気道収縮が起こる濃度の LTC<sub>4</sub>、LTD<sub>4</sub> 吸入前に TXA<sub>2</sub> 拮抗薬である S-1452、PAF 拮抗薬である Y-24180 を投与した結果 LT 吸入による気道収縮反応は S-1452 で有意に抑制されたが、Y-24180 では変化がなく LT 吸入後の BALF 中では、TXB<sub>2</sub> が増加した (data not shown)。STA<sub>2</sub> 吸入における LT 拮抗薬である ONO-1078、Y-24180 の前投与は気道収縮反応に影響を与えなかった。これらの2つの事実から LT はアラキドン酸カスケードのシクロオキシゲナーゼ経路を刺激するが、TXA<sub>2</sub> は5-リポキシゲナーゼ経路を刺激しないという、一方向性が考えられた。しかし現在使用可能または開発中の TXA<sub>2</sub> 拮抗剤はプロスタグランジン F<sub>2 $\alpha$</sub> 、プロスタグランジン D<sub>2</sub> 受容体をも遮断するため本研究では、これらの関与は無視出来ないと考えられる。PAF 吸入における S-1452、ONO-1078 100 mg/kg の前投与で気道収縮は抑制され、LT、TXA<sub>2</sub> が PAF の二次的なメデエーターとして関与していると考えられた。喘息患者では、抗原誘発気道収縮後に血漿中、気管支肺胞洗浄液中の TXB<sub>2</sub> 濃度が上昇し、尿中の 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> の排泄が一過性に増加することが報告されているが<sup>36</sup>、イヌ ozon 吸入後の気道反応性亢進時には BALF 中 TXB<sub>2</sub> に変化を認めなかったとの報告もみられる<sup>28</sup>。LT は気管支喘息患者の<sup>37-39</sup> 気管支肺胞洗浄中、血液中<sup>40,41</sup> および尿中<sup>42</sup> で検出されることから、気管支喘息患者で産生亢進を認めることが明かである。さらに LT の吸入によって喘息様の症状が誘発され<sup>43,44</sup>、気道の反応性が亢進する<sup>45,47</sup>。実験で LT、PAF、STA<sub>2</sub> により気道反応性が亢進し、これらメデエーターが喘息の病態形成に関与していることが示唆された。本研究では LT、PAF のいずれも TXA<sub>2</sub> を介するが TXA<sub>2</sub> は LT、PAF を介さず、TXA<sub>2</sub> は喘息の重症化、難治化を惹起する一要因と考えられた。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御校閲を頂いた恩師福岡正博教授に深甚の謝意を捧げます。また、御指導、御助言頂いた東田有智

助教授,ならびに免疫・アレルギーグループの各位に心から感謝いたします。なお,本論文の一部は第11回日本アレルギー学会春季臨床大会(平成11年5月,大阪)において発表した。

### 文 献

1. 牧野荘平編.アレルギー疾患治療ガイドライン.東京:ライフサイエンス・メディカ,1995
2. Braquet P, Touqui L, Shen TY, Vargaftig BB (1987) Perspectives in platelet-activating factor research. *Pharmacol Rev* 39: 97-145
3. Thivierge M, Rola-Pleszczynski M (1992) Platelet-activating factor enhances interleukin-6 production by alveolar macrophages. *J Allergy Clin Immunol* 90: 796-802
4. Frigas E, Gleich GJ (1986) The eosinophil and the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 77: 527-537
5. Samuelsson B (1983) Leukotrienes: Mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science* 220: 568-575
6. Hamberg M, Svensson J, Samuelsson B (1975) Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc Natl Acad Sci USA* 72: 2994-2998
7. Diaz P, Gonzalez MC, Galleguillos FR, Ancic P, Cromwell O, Shepherd D, Durhan SR, Gleich GJ, Kay AB (1989) Leukocyte and mediators in bronchoalveolar lavage during allergen-induced late-phase asthmatic reactions (1989) *Am Rev Respir Dis* 139: 1383-1389
8. Barnes NC, Pujet JC (1997) Pranlukast, a novel leukotriene receptor antagonist: results of the first european, placebo controlled, multicentre clinical study in asthma. *Thorax* 52: 523-527
9. Fujimura M, Nakatsumi Y, Nishi K, Kasahara K, Matsuda T (1995) Involvement of thromboxane A2 in bronchial hyperresponsiveness of asthma. *Pulm Pharmacol* 8: 251-257
10. Terasawa M, Aratani M, Setoguchi T, Tahara T (1990) Pharmacological actions of Y-24180: I. a potent and specific antagonist of platelet-activating factor. *Prostaglandins* 40: 553-569
11. 東田有智(1989)気管支喘息の発症機序の実験的解明:実験的2相性喘息モデルによる検討. *近畿大医誌* 14: 133-149
12. 岩崎剛和,津谷泰夫,藤田悦生,藤本和久,上西豊基,東田有智,波津竜平,田中 明,長坂行雄,中島重徳(1987)  $\alpha \cdot \beta$  受容体遮断薬 Dilevalol のモルモット気道過敏性におよぼす影響. *アレルギー* 36: 848-854
13. 村木正人(1993)実験喘息モルモット気道反応性亢進における気道炎症と chemical mediators の役割. *近畿大医誌* 18: 263-283
14. Laitinen LA, Laitinen A, Haahtela T (1992) A comparative study of the effect of an inhaled corticosteroid, budesonide, and a  $\beta 2$ -agonist, terbutaline, on airway inflammation in newly diagnosed asthma: A randomized, double-blind, parallel-group controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 90: 32-42
15. 石原陽子,北村 諭(1982)モルモット摘出気管切片における Leukotriene C4, D4 の作用について. *日胸疾患誌* 20: 391-397
16. Robinson C, Holgate ST (1985) Mast cell-dependent inflammatory mediators and their putative role in bronchial asthma. *Clin Sci* 68: 103-112
17. Jacques AJ, Spur BW, Johnson M, Lee TH (1991) The mechanism of LTE4-induced histamine hyperresponsiveness in guinea-pig tracheal and human bronchial smooth muscle in vitro. *Br J Pharmacol* 104: 859-866
18. Cockcroft DW, Ruffin RE, Dolovich J, Hargreave FE (1977) Allergen-induced increase in non-allergic bronchial reactivity. *Clin Allergy* 7: 503-513
19. Cartier A, Thomson NC, Frith PA, Roberts R, Hargreave FE (1982) Allergen-induced increase in bronchial responsiveness to histamine: relationship to the late asthmatic response and change in airway caliber. *J Allergy Clin Immunol* 70: 170-177
20. O'hickey SP, Hawksworth RJ, Fong CY, Arm JP, Spur BW, Lee TH (1991) Leukotrienes C4, D4, and E4 enhance histamine responsiveness in asthmatic airways. *Am Rev Respir Dis* 144: 1053-1057
21. Becker AB, Black C, Lilley MK, Bajwa K, Ford-Hutchinson AW, Simons FER, Tagari P (1995) Antiasthmatic effects of a leukotriene biosynthesis inhibitor (MK-0591) in allergic dogs. *J Appl Physiol* 78: 615-622
22. Howell RE, Sickels BD, Woepel SL, Jenkins LP, Rubin EB, Weichman BM (1994) Leukotrienes mediate antigen-induced airway hyper-reactivity in guinea pigs. *J Pharmacol Exp Ther* 268: 353-358
23. Fujimura M, Sasaki F, Nakatsumi Y, Takahashi Y, Hifumi S, Taga K, Mifune J, Tanaka T, Matsuda T (1986) Effect of a thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) and a lipoxygenase inhibitor (AA-861) on bronchial responsiveness to acetylcholine in asthmatic subjects. *Thorax* 41: 955-959
24. Fujimura M, Sakamoto S, Matsuda T (1990) Attenuating effect of a thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) on bronchial responsiveness to methacholine is specific to bronchial asthma. *Chest* 98: 656-660
25. Morley J, Sanjar S, Page CP (1984) The platelet in asthma. *Lancet* 17: 1142-1144
26. Cuss FM, Dixon CNS, Barnes PJ (1986) Effects of inhaled platelet activating factor on pulmonary function and bronchial responsiveness in man. *Lancet* 26: 189-192
27. Schellenberg RR, Walker B (1983) Platelet dependent contraction of human bronchus by platelet-activating factor. *J Allergy Clin Immunol* 71: 145-145
28. 伊平慶三,今井俊道,菅井 彰,檜山貴子,菅沼孝夫,足立 満,高橋昭三,田中祐有子(1992)Ozone 暴露による気道反応性亢進における特異的 Thromboxane A2 受容体拮抗剤 S-1452 の抑制効果. *アレルギー* 41: 111-118

29. Omini C, Folco GC, Vigano T, Rossoni G, Bruneil G, Berti F (1981) Leukotriene-C4 induces generation of PGI<sub>2</sub> and TXA<sub>2</sub> in guinea-pig in vivo. *Pharmacol Res Commun* 13: 633-640
30. Leitch AG, Corey EJ, Austen KF, Drazen JM (1983) Indomethacin potentiates the pulmonary response to aerosol LeukotrieneC4 in guinea pig. *Am Rev Respir Dis* 128: 639-643
31. Hamel R, Masson P, Ford-Hutchinson AW, Jones TR, Brunet G, Piechuta H (1982) Differing mechanism for leukotrieneD4-induced bronchoconstriction in guinea pigs following intravenous and aerosol administration. *Prostaglandins* 24: 419-432
32. Chung KF, Aizawa H, Leikauf GD, Ueki IF, Nadel JA (1986) Airway hyperresponsiveness induced by platelet-activating factor: role of thromboxane generation. *J Phramacol Exp Ther* 266: 580-584
33. 神谷勤子, 足立 満, 岡沢 明, 今井俊道, 岡田陽子, 佐藤 仁, 小林秀樹, 西片 光, 高橋昭三 (1988) PAF吸入後の気道反応性亢進とそのメカニズムについて. *アレルギー* 37: 274-282
34. Lefort J, Rotilio D, Vargaftig BB (1984) The platelet-independent release of thromboxaneA2 by pafacether from guinea-pig lung involves mechanisms distinct from those for leukotriene. *Br J Pharmacol* 82: 565-575
35. 斎藤元泰 (1992) モルモット即時型喘息反応におけるトロンボキサン A<sub>2</sub>, ロイコトリエンおよび血小板活性化因子の関与と相互作用. *金沢大医誌* 101: 730-732
36. Oosaki R, Mizushima Y, Kawasaki A, Mita H, Akiyama K, Kobayashi M (1998) Correlation among urinary eosinophil protein X, leukotriene E4, and 11-dehydrothromboxane B2 in patients with spontaneous asthmatic attack. *Clin Exp Allergy* 28: 1138-1144
37. Lam S, Chan H, LeRiche JC, Chan-Yeung M, Salari H (1988) Release of leukotrienes in patients with bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 81: 711-717
38. Warblow AJ, Hay H, Cromwell O, Collins JV, Kay AB (1989) Leukotrienes, LTC4 and LTB4, in bronchoalveolar lavage in bronchial asthma and other respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol* 84: 19-26
39. Wenzel SE, Larsen GL, Johnston K, Voelkel NF, Westcott JY (1990) Elevated levels of leukotriene C4 in bronchoalveolar lavage fluid from atopic asthmatics after endobronchial allergen challenge. *Am Rev Resp Dis* 142: 112-119
40. Samuelsson B (1983) Leukotrienes: a new class of mediators of immediate hypersensitivity reaction and inflammation. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 11: 1-13
41. Samuelsson B (1983) Leukotrienes: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science* 220: 568-575
42. Drazen JM, Austen KF, Lewis RA, Clark DA, Goto G, Marfat A, Corey EJ (1980) Comparative airway and vascular activities of leukotrienes C-1 and D in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 4354-4358
43. Smith LJ, Greenberger PA, Patterson R, Krell RD, Bernstein PR (1985) The effect of inhaled leukotriene D4 in humans. *Am Rev Respir Dis* 131: 368-372
44. Bisgaard H, Groth S (1987) Bronchial effect of leukotriene D4 inhalation in normal human lung. *Clin Sci* 72: 585-592
45. Kern R, Smith LJ, Patterson R, Krell RD, Bernstein PR (1986) Characterization of the airway response to inhaled leukotriene D4 in normal subject. *Am Rev Resp Dis* 133: 1137-1132
46. Arm JP, Spur BW, Lee TH (1988) The effects of inhaled leukotrieneE4 on the airway responsiveness to histamine in subject with asthma and normal subject. *J Allergy Clin Immunol* 82: 654-660