The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	トロンボキサンの咳感受性亢進に関する研究
Author(s)	品川, 和彦
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44746
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名　品川和彦（しながわかずひこ）

博士の専攻分野の名称　博　士（薬　学）

学位記番号　第　18882　号

学位授与年月日　平成16年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第2項該当

学位論文名　**トロンボキサンの咳感受性亢進に関する研究**

論文審査委員　（主査）
教　授　西原　力
（副査）
教　授　山元　弘　教　授　田中　慶一　教　授　馬場　明道

論文内容の要旨

咳の受容体は気道上皮に広く分布しており、刺激を受けると興奮し、求心性神経線維を介して延髄にある咳中枢にシグナルを伝える。咳の興奮を伝えるのは有随Aδ線維と無随C線維の2つで、Aδ線維の末端にはrapid adapting receptors（RARs）、C線維の末端にはpulmonary C-fiber receptorsやbronchial C-fiber receptorsが存在する。これら受容体から信号を受け取った中枢は、咳の必要性を確認し指令を出すと、それが逆のルートの体性神経を介して降りていき、声帯や横隔膜、肋間筋を選択的に収縮させ咳が起こる。

咳は湿性と乾性の2種類に分類される。気管支喘息、慢性気管支炎、副鼻腔気管支症候群などは喀痰を伴う湿性咳嗽であり、咳喘息、アトピー咳嗽などは喀痰を少量あるいは伴わない乾性咳嗽を呈する。乾性咳嗽はQOLに悪影響を与えるため早めに抑えた方が良いが、完全に鎮咳することは困難な疾患である。TXA_2合成酵素阻害剤であるOKY-046が、乾性咳嗽患者に有効性を示し、TXA_2の乾性咳嗽への関与が考察されるが、その機序は明らかでない。そこで動物モデルを用い、TXA_2が咳の発現にどのように関与しているのかについて検討した。

モルモットへのPBS吸入では咳の誘発は認められなかったが、capsaicin吸入により咳が誘発された。その際TXA_2の代謝産物であるTXB_2のBAL中濃度が有意に増加した。一方、BAL中の細胞については変化が認められなかった。TXA_2アナログであるU-46619の単独吸入では咳の発現は認められなかったが、U-46619の吸入後capsaicinを吸入したところ、capsaicin吸入直後より咳が強力に誘発された。また、OKY-046の経口投与により用量依存的に咳嗽数が減少した。一方、procaterolの高用量投与により咳反応は完全に抑制されなかったことより、capsaicin誘発咳反応へは気道収縮は関与していないことが考察され、TXA_2は気道収縮以外のメカニズムにより咳の誘発に関与していると考えられた。

BAL細胞へcapsaicinを添加したところ、濃度依存的に上清中のTXB_2は増加したことより、BAL中の細胞よりTXA_2が産生・分泌されたことが考察された。BAL中には主にマクロファージや好酸球が存在しており、TXA_2のソースとして、どちらの関与も考えられる。そこで、どちらの細胞がTXA_2を産生した細胞か明らかにすることにした。正常マウスより得たBAL液は、ほぼ100%マクロファージであるため、マクロファージの単離方法についての検討は必要ないため、好酸球の単離のみが必要となる。しかしながら、マウスBALからの好酸球精製方法として知られている密度勾配法は、時間がかかる上、収率も良くない。そこでレクチンを用いて、マウスBAL中より好酸球を容易に精製する方法を検討した。

BAL中には好酸球以外に、マクロファージ、リンパ球が存在するが、好酸球の精製ではマクロファージの除去が重

要である。細胞表面上には種々のタンパク質以外に、糖鎖が存在することが広く知られている。そこで、マクロファージに特異的に結合するレクチンの探索を行った結果、BSL-1が最も特異的にマクロファージに結合することを明らかとした。BSL-1を用いた精製の最適条件を検討した結果、10 μg/ml、60分間のインキュベーションにより効率良くマクロファージを除去できることが示された。残ったリンパ球（T cell、B cell）は特異抗体を用いて除去し、BAL液を得てから2時間以内に99%以上純粋な好酸球を得る方法を確立した。

新しく開発した方法を用いて精製した好酸球が、機能的であり実験に用いることができる細胞であるか確認した。精製した好酸球はPMA刺激により活性酸素の産生が増加したことが確認された。また、好酸球の細胞表面上にFas抗原の発現が認められ、Fas抗体の添加によりアポトーシスが誘発された。さらに、Eotaxinに対して反応性を示すことが明らかとなった。以上より、新しく開発した精製方法により得られた好酸球は機能的に有用な細胞であることが示された。

マクロファージおよび好酸球をcapsaicin刺激し、TXA_2が産生されるかどうか検討したところ、capsaicinの濃度に依存して産生された。しかしながら、好酸球からのTXB_2産生量はマクロファージに比べ約3分の1程度であり、マクロファージから産生されたTXB_2量はBAL細胞を刺激した際に得られたものと同程度であった。したがってcapsaicin刺激により、BAL中のマクロファージよりTXA_2が産生された可能性が示された。

以上より、capsaicin誘発咳嗽においてTXA_2の産生亢進が認められ、OKY-046により咳の発現も減少した。また、U-46619単独では咳の誘発は認められなかったが、U-46619前処置後capsaicinを吸入したところ、咳の数が増加した。したがって、TXA_2は咳の発現そのものに関与しているのではなく、刺激に対する閾値を低くし、咳が誘発されやすくしている可能性が示された。BSL-1レクチンを用いた好酸球の精製方法を確立し、得られた好酸球は機能的な細胞であることが確認されたが、TXA_2の産生能は低かった。一方、好酸球に比べるとマクロファージからのTXA_2産生量は多く、主要な産生源はマクロファージである可能性が示された。マクロファージは、異物や細菌の貪食により肺を清潔に保つ働きが注目されていたが、刺激によりTXA_2を産生し、咳に対する閾値を下げ、咳の数を増加する可能性が示唆された。肺へ侵入した異物の排除には、咳の誘発は重要であるが、長期間に亘り咳を引き起こすことにより疲弊し、死に至る場合もあるため、咳を鎮める必要もある。さらに最近、風邪をひき熱が引いた後も、数ケ月に渡り咳が持続する場合が増加し、安眠できないなどのデメリットも生じるため治療が必要である。そのような場合、BAL中マクロファージから分泌されるTXA_2の作用を抑制することにより鎮咳効果が期待される。

以上より、肺マクロファージよりTXA_2が産生され、咳に対する閾値を下げていることを明らかにした。肺マクロファージの本来の役割は、肺の清浄化であったが、刺激によっては生体に対し悪影響を及ぼすことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

品川君は、かぜ症候群後の慢性の咳など、痰を伴わない咳にトロンボキサンA_2（TXA_2）合成阻害剤（OKY-046）が有効であるとの報告から、咳誘発へのTXA_2の関与およびその機序を検討した。まず、モルモットにカプサイシンを吸入させると、咳が誘発され、肺洗浄液（BAL）中のTXA_2量が増加すること、OKY-046が咳誘発を抑制すること、カプサイシン刺激によりBAL細胞からのTXA_2産生が増加することを示した。BAL細胞からレククチン・マイクロビーズを利用して本来の生理機能をもつ好酸球を簡便に精製する方法を確立し、好酸球よりもマクロファージがTXA_2をより多量に産生し、このTXA_2産生がOKY-046により抑制されることを明らかにした。

以上のように品川君は、末梢において咳の誘発にはマクロファージにより産生されるTXA_2が重要であることを示し、新薬の開発にも有用であるこの機序は学術的にも高く評価されるものであり、博士（薬学）学位論文として充分価値あるものと認められる。