

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	品川和彦
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 A δ 線維と無随 C 線維の2つで、A δ 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 of 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。TXA₂ 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、TXA₂ 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、TXA₂ 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 TXA₂ の代謝産物である TXB₂ 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。TXA₂ 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、TXA₂ 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 TXB₂ は増加したことより、BAL 中の細胞より TXA₂ 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、TXA₂ 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 TXA₂ を産生した細胞が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 $\mu\text{g/ml}$ 、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、TXA₂ 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 TXB₂ 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 TXB₂ 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 TXA₂ 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 TXA₂ 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、TXA₂ 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、TXA₂ 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 TXA₂ 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 TXA₂ 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、数ヶ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 TXA₂ 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 TXA₂ 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 A₂ (TXA₂) 合成阻害剤 (OKY-046) が有効であるとの報告から、咳誘発への TXA₂ 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 TXA₂ 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 TXA₂ 産生が増加することを示した。BAL 細胞からレクチン・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 TXA₂ をより多量に産生し、この TXA₂ 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 TXA₂ 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。