

氏名(本籍)	早 ^さ 乙 ^{おとめ} 女 ^め 幹 ^{みき} 朗 ^お (埼玉県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第1024号		
学位授与年月日	平成4年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	モルモット気道におけるエンドセリン誘発性反応 ——弛緩反応を中心としての薬理的, 生化学的検討—— (Dissertation形式)		
主査	筑波大学教授	医学博士	工藤典雄
副査	筑波大学教授	医学博士	小形岳三郎
副査	筑波大学教授	医学博士	草刈潤
副査	筑波大学教授	医学博士	堀原一
副査	筑波大学助教授	医学博士	水澤英洋

論 文 の 要 旨

〈目的〉

気管支喘息における気道収縮はI型アレルギー反応, すなわちアナフィラキシー反応に起因する。アナフィラキシー反応に際しては数多くの気管平滑筋収縮性の因子が働いていることがこれまで知られてきたが, 近年の研究から, 気管支喘息に見られる気道収縮には, 平滑筋収縮因子の作用ばかりではなく, 気道に存在する様々な弛緩性の因子が重要な関与をしていることが示唆されている。したがって, 気管支喘息の発生機序をより明らかにし, その予防や治療法の改善を計るためには, 気道弛緩性因子についての解明が必要不可欠である。本研究では, 血管や気道の強力な収縮性ペプチドであるエンドセリン(ET)がアナフィラキシー反応後の気管平滑筋には弛緩性の作用を有することを明らかにし, これらの作用機序について薬理的, 生化学的手法を用いて検討を行なった。

〈方法〉

実験には体重約300gのHartley系雌性モルモットを用いた。

(1) 気管平滑筋に対するエンドセリンの弛緩作用の解析。

卵白アルブミン感作モルモットを麻酔下に開胸し, 気管を摘出した。気管切片からなる気管平滑筋標本を95%O₂+5%CO₂で飽和したKrebs-Ringer液中に懸垂し, 平滑筋の等尺性張力を張力トランスデューサーを用いて測定した。各種薬剤の作用はアナフィラキシー反応を惹起し, 平滑筋が収縮した状態にて観察された。気道のアナフィラキシー反応は*in vitro*と*in vivo*にて誘発した。すなわち, 前者においては緩衝液中に卵白アルブミンを添加することにより, 平滑筋を収縮させた。

また、後者においては気管平滑筋標本の作成前に、卵白アルブミンを溶解した生理的食塩水をネブライザーを用いて吸入投与した。

(2) 気道上皮細胞における Nitric Oxide (NO) 産生の検討。

無菌的に摘出した気道から、酵素処理により気道上皮細胞を単離し、培養した。培養上皮細胞に放射性アルギニンを取り込ませ、各種濃度のエンドセリン刺激による NO の産生について調べた。培養上清中の NO の量は、アルギニンから同時に産生されるシトルリンの量を測ることにより間接的に測定された。

〈結果と考察〉

- (1) アナフィラキシー反応により収縮している気管平滑筋に対して、ET family の内、ET-1 と ET-2 は弛緩作用を示した。ET-3 や他の気管収縮物質であるニューロキニン A やアセチルコリンは、アナフィラキシー反応下でも弛緩作用は認められず、弛緩反応は ET-1 と ET-2 に特異的な作用であることが明らかになった。
- (2) 上記の弛緩反応はホスホリパーゼ A₂ 阻害剤により減弱することから、アラキドン酸系関与が示唆された。さらに、リポキシゲナーゼの阻害剤によって弛緩反応は消失し、収縮反応のみが観察されることから、アラキドン酸リポキシゲナーゼ系の関与が推察された。
- (3) 血管平滑筋の弛緩物質である NO の生成阻害剤や安定化剤の添加によっても、上記の気管平滑筋弛緩反応は変化しなかった。また、神経活動の薬理的遮断や伝達物質の枯渇によっても、弛緩反応は誘発された。さらに、気道上皮を剥離すると気管平滑筋の弛緩反応はむしろ増強した。以上の結果からエンドセリンの弛緩反応は、NO を介するものではなく、気管平滑筋への直接効果によることが示唆された。
- (4) *In vivo* における卵白アルブミンの吸入投与によってアナフィラキシーを惹起した標本においても、ET-1 の弛緩作用は観察された。この効果は吸入後 24 時間以上経過した標本においても認められた。
- (5) 培養気道上皮細胞への ET-1 刺激によって、用量依存的に培養上清液中にアルギニンの代謝産物であるシトルリンの産生が認められた。このことから ET-1 は培養気道上皮細胞に作用して NO 産生を促すことが推察された。

審 査 の 要 旨

本研究は、これまで血管平滑筋と同様に気管平滑筋に対しても強い収縮作用を持つことが知られているエンドセリン (ET) が、気道のアナフィラキシー状態下では気管平滑筋に対して逆に弛緩作用をすること、さらに、この作用が ET-1 と ET-2 に特異的に認められることを初めて明らかにしている。その弛緩反応にはアラキドン酸リポキシゲナーゼ系が関与していることを、各種の薬理学的手法を用いた実験から結論している。これらの成果は気管支喘息の予防や治療の確立に重要な基本的知見を提供するものであり、その臨床的な価値は大きい。また、本研究ではエンドセリン刺激に

よって気道上皮細胞は血管平滑弛緩物質として知られている NO を産生するが、この NO はアナフィラキシー反応下の気管平滑筋の弛緩には関与しないことを見いだしている。

これらの結果は、血管平滑筋と気管平滑筋とではその弛緩の機序に大きな相違があることを示唆しており、今後の気管支喘息の病態生理の研究に大きな影響を及ぼすものと考えられる。

実験は論理的な計画の下に遂行されており、実験結果の解釈も妥当であり、信頼性の高い論文として高く評価しうる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。