

氏名(本籍)	飯島 弘 晃 (茨城県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第1,933号		
学位授与年月日	平成10年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	気管支喘息における一酸化窒素の役割		
主査	筑波大学教授	医学博士	豊岡 秀訓
副査	筑波大学併任教授	薬学博士	嵯峨井 勝 (国立環境研究所)
副査	筑波大学助教授	医学博士	永瀬 宗重

論文の内容の要旨

(目的)

近年、気管支喘息患者において呼気中一酸化窒素 (nitric oxide; NO) 濃度の増加と、気管支粘膜生検において、誘導型NO合成酵素 (inducible NO synthase; iNOS) の免疫活性が報告された。また、これらの喘息患者は、副腎皮質ステロイド剤による治療で呼気中NO濃度の減少が見られることから、気道閉塞の病態に内因性NOが何らかの形で関与していることが考えられる。

本研究では、モルモット喘息モデルを用いて内因性NOの気管支喘息における役割を検討した。

(方法)

1) 抗原誘発性気道反応と呼気中NO濃度の検討

小動物用体プレチスモグラフを用いて、抗原吸入後の喘息反応を観察した。特殊気道コンダクタンス (Specific airways conductance; SGaw) の変化をモニターし、同時に呼気中NO濃度を化学発光法にて測定した。

2) NOS阻害剤およびNO基質を用いた気道反応におけるNOの役割についての検討

NOSの阻害剤として、N^ω-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) 2.0mMおよびaminoguanidine 2.0mMを抗原吸入後3, 4時間目にそれぞれ20分間、NOの基質であるL-arginine 2.4mMおよびD-arginine 2.4mMを抗原チャレンジから2, 3時間目にそれぞれ20分間吸入させ、気道反応の変化を観察した。

3) 気道反応悪化のメカニズムに関する検討

2)と同様に処置したモルモットに対し、抗原チャレンジから6時間目に、HE染色による気道の観察および気管支肺胞洗浄による炎症細胞の検討を行った。さらに、気道粘膜下の血管透過性に関して、Monastral blue色素にて組織学的観察を行った後、Evans blue色素にて定量した。また、気道粘膜下血管内皮細胞については電子顕微鏡にて観察を行った。

(結果)

1) 抗原吸入直後より始まる即時型気道反応 (immediate airway response; IAR) と4時間から6時間目に起こる遅発型気道反応 (Late airway response; LAR) の二相性の喘息反応が観察された。呼気中NO濃度もこれらの反応に一致して上昇したが、特に、LARでの上昇が顕著であった。

2) NOS阻害剤投与群ではVehicle群に比べLARを有意に抑制したのに対し、L-arginine投与群ではLARが増悪

した。また、光学異性体であるD-arginine ではLARに影響を与えなかった。

3) 炎症細胞の動態は、L-NAME投与群で好酸球の浸潤を抑制し、L-arginine 投与群で好酸球浸潤が増悪した。さらに、組織学的検討では、気道粘膜下血管の著明な血管拡張と血管内皮細胞の傷害が観察された。また、色素を用いた血管透過性に関する定量的解析においても、L-NAME投与群で気道の血管透過性を有意に抑制し、L-arginine 投与群で増悪した。

4) 電子顕微鏡を用いた検討で、L-arginine 投与群で、血管内皮細胞の傷害が見られた。

(考察)

1) ヒトにおける報告と同様に、喘息モデルにおいても気道反応に一致して呼気中NO濃度の上昇が見られることから、本研究で使用した動物は、気管支喘息の病態解明に有用なモデルと考えられる。

2) 抗原チャレンジ後、iNOSが誘導されてくると考えられる時点にNOS阻害剤を投与してLARが抑制され、L-arginine を投与してLARが増悪することからLAR形成にNOが深く関わっていることが考えられる。

3) 炎症細胞の動態では、NOS阻害剤が特異的に好酸球数を抑制したことから、NOが好酸球性炎症に関わっている可能性がある。また、組織学的検討で、L-arginine 投与で気道内血管拡張、浮腫および血管内皮細胞の傷害が見られたことから、LARにおいては、気道上皮細胞、血管内皮細胞および炎症細胞などでiNOSが誘導され、大量のNOが生成されることにより気道反応が悪化していると考えられる。

審査の結果の要旨

一酸化窒素 (NO) は気管支喘息の病態に深く関わっているものと思われるが、その関わり方には多様性があり、最近の諸報告にも一致した見解がみられない。本研究はモルモット喘息モデルを用いて内因性NOの気管支喘息における役割を検討したものである。本研究において候補者は、喘息反応抗原のチャレンジ後、iNOSの誘導によると考えられる遅発型気道反応に対してNOS阻害剤を吸入投与することによって気道反応が抑制され、L-arginine を投与することによってこれが増悪することから、特に遅発型気道反応の形成にNOが増悪因子として深く関与していることを証明した。このように、本研究は気管支喘息の病態におけるNOの役割、およびNO代謝を操作することによる喘息治療の可能性に新たな一局面を切り開いたものとして高く評価される。

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。