

## 第 2 章

喘息動物モデルにおけるエンケファリナーゼ活性の検討

－ I A R 時、L A R 時のエンケファリナーゼ活性の検討－

## 1. はじめに

気管支喘息患者の病因抗原吸入暴露後の気道反応は、抗原吸入直後に発症する、即時型反応 (IAR) と、抗原吸入後 4-12 時間後、徐々に出現し持続の長い、遅発型反応 (LAR) に大別される (Pepys, 1968; Booij, 1971)。

IAR は、主に I 型アレルギーによって発症すると考えられ、肥満細胞より遊離される化学伝達物質が関与していると考えられている。

LAR は、临床上、持続時間が長く、 $\beta$  刺激剤に低反応であり、副腎皮質ホルモン薬が奏効するなどの特徴を有し (O'Byrne, 1987)、また、病態の重症度や気道反応性亢進との関連も示唆され (Cartier, 1982)、気管支喘息の病態解析の上でも重要と考えられている。その発症には、好酸球や好中球 (Rossi, 1991; Gundel, 1992)、血小板 (Averill, 1992) などの関与が報告されているが、詳細はいまだに不明である。

一方、エンケファリナーゼは、タキキニン類やエンケファリンなどの神経ペプチドを、中性の条件下に効率よく水解することが知られており (Kerr, 1974a; 1974b; Malfroy, 1978; Matsas, 1983, 1984; Goetzl, 1989)、気道、血管、神経組織などで神経ペプチドによる種々の反応を調節していること知られている (Stimler-Gerard, 1987; Borson, 1987; Iwamoto, 1989; Roques, 1980)。

前章において私は、エンケファリナーゼ活性が低下した状態において、ET-1 や NKA の気道収縮作用が発現されることを報告した。そのような条件が、実際に、喘息の病態において、生じるのか否かについて、喘息モデルを作成して検討してみることにした。

本章では、IAR、LAR の両者を呈する、二相性のモルモット喘息モデルを作成し、IAR 時、LAR 時におけるエンケファリナーゼ活性の動態について検討した。更に、実際に IAR 時、LAR 時のモルモット摘出気管平滑筋を用いて薬理的張力測定を行い、タキキニン類の一種であるニューロキニン A (NKA) に対する反応性について検討した。

## 2. 方法

### a) 対象

Hartley系モルモット 日本S L Cより購入した。

### b) 試薬

CyclophosphamideはAldrich Chemical社、ペントバルビタールナトリウムはダイナボット社、Suc-Ala-Ala-Phe-AMeCouはBACHEM社、粗製卵白アルブミン (OA)、Oc $\beta$ G1cp、Tes は和光純薬工業社、N K A、ホスホラミドン、AMeCou はペプチド研究所より購入した。

### c) 実験方法

#### 2-1

##### 感作方法および抗原吸入暴露

体重約200-300gの Hartley系雌性モルモットを用いて感作を開始した。

Anderssonの方法 (Andersson, 1981) を一部変更してモデルを作成した (図 2-1)。初日に、cyclophosphamide 30mg/kg を腹腔内投与し、2日後 {粗製卵白アルブミン (以下OA) 1000 $\mu$ g+Al(OH)<sub>3</sub> 100mg} を腹腔内投与した。ブースターとして、3週後に {OA 10 $\mu$ g+Al(OH)<sub>3</sub> 100mg} を腹腔内に投与して感作を成立させた。

ブースターより3週後、感作開始から6週後に OA 4mg/mlを2分間吸入させて抗原暴露して誘発した。吸入誘発は、小動物用体プレチスモグラフ (図 1-3) にて無麻酔、自発呼吸下にて行い Agrawalの方法 (Agrawal, 1981) に従い、specific airway conductance (sGaw)を求めた。

また、感作の成立はP C A titerによっても確認した。P C A反応は Ovaryの方法 (Ovary, 1964) に従い、感作モルモット血清の希釈系列を体重約 250g の未感作モルモットの背部皮膚に各 0.1ml皮内注射し、4時間、および48時間後に、OA 500 $\mu$ g と1% Evans Blue液 1mlを静注し、30分後

に直径 8mm以上青色化したものを陽性と判定した。

ネブライザー (オムロンNE-U11)、差圧トランスデューサー (TP-602T、日本光電)、呼吸気流計 (TV-241T、日本光電)、XYレコーダー (VQ-065A、ナショナル) を使用した。

## 2-2

### モルモット気管、肺、BALF中のエンケファリナーゼ活性の測定

OA吸入誘発前群 (コントロール群)、IAR時、LAR時の各々について、検体を作成した。IAR時の検体は、吸入誘発5分後、LAR時の検体は、IAR回復後、sGawが、再び吸入誘発前の75%以下に低下し、30分以上継続した時点で採取した。

モルモットをペントバルビタール 50mg/kg 腹腔内投与麻酔後、正中切開にて開胸し、気管を露出して、カニューレを挿入し、生食20ml×3回にてBAL (bronchoalveolar lavage) を施行した。回収したBALF (bronchoalveolar lavage fluid)を 400×g 20分間 (4°C) 遠心し、その上清をBALFの検体とした。ついで気管および肺を摘出し、気管分岐部で気管と肺に分けてホモジネートし、50mM octyl β-D-glucopyranoside (Oc β Glcp)を含む 50mM 2-[[tris(hydroxymethyl)methyl]amino]-ethanesulfonate (Tes) buffer (pH 7.5) 中に浮遊させ、100,000×g 60分間 (4°C) 遠心し、得られた上清を気管、および肺の検体とした。

エンケファリナーゼ活性は前章同様、Zimmermanらの方法に従い、基質に Suc-Ala-Ala-Phe-AMeCou を用いて測定した (Zimmerman, 1976; 1978; Mumford, 1981)。検体 0.5mlを上記基質を含む溶液 {Suc-Ala-Ala-Phe-AMeCou 0.2mM、50mM Tes buffer、5% dimethylsulfoxide、leucine aminopeptidase (5 μg/ml)、zinc acetate (50 μM)、calcium chloride (10mM)} 0.5mlと25°Cで30分間反応させ、産生される AMeCou 量を分光蛍光光度計 (F 2000形、日立社) にて、励起波長 383nm、蛍光波長 455nmの条件下で測定した。測定時の際の溶液のpHは 7.0程度の中性に保たれていることを確認した。エンケファリナーゼ活性は、含有蛋白量 (バイオラッド法にて測定) で補正し、1分間に産生される AMeCou 量にて表現した。

## 2-3

### エンケファリナーゼ分画の検討

測定したエンケファリナーゼが、ホスホラミドンに感受性を示す分画か否かについて、BALF検体を用いて確認した。

BALF検体、(BALF検体+基質を含む溶液)、更に、これにエンケファリナーゼ阻害剤であるホスホラミドンを $10^{-6}$ M加えた場合、の3つの条件下で各々、30分間 incubation した。その後 383nmの励起波長でスキャンし、蛍光波長のスペクトラムを観察した。

## 2-4

### NKA誘発摘出気管切片収縮の検討

感作モルモットをOA吸入で誘発し、前記2-2と同様にIAR、および、LARを生じた時点で、ペントバルビタール50mg/kg 腹腔内投与麻酔後、正中切開にて開胸し、気管、心肺を一塊として摘出した。気管を周囲組織を鈍的に剥離して摘出し、軟骨部で断面を入れ縦切開し、2-3mm ずつの切片を横切開して作った。この切片を3個連結して、気管平滑筋標本を作成し、modified Krebs-Ringer 液(NaCl 112mM;KCl 4.8mM;CaCl<sub>2</sub> 2.8mM;KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2mM;MgSO<sub>4</sub> 1.2mM;NaHCO<sub>3</sub> ; 25mM;glucose 5.5mM) 5mlで満たしたマグナス管内に懸垂し、一端は固定し、他端は張力トランスデュサー(TB-611T、日本光電)に接続して等尺性に張力変化を観察した。標本に1gの張力をかけ、1-2時間静置し平衡に達した後、塩化カリウム(KCl) 50mMを加え、この収縮反応を100%として、各反応を表示した。modified Krebs-Ringer 液で十分洗い、ホスホラミドン $10^{-6}$ M、あるいは対照として生食を添加し、約30分間 incubation 後、NKAを濃度蓄積的に $10^{-11}$  Mより $10^{-6}$ Mまで加え、用量反応曲線を作製した。マグナス管内の modified Krebs-Ringer液は37°Cに保ち、95%O<sub>2</sub> と5%CO<sub>2</sub> の混合気にて飽和させた。

## 2-5

### 組織学的検討

コントロール群、IAR時、LAR時について、気道上皮の組織学的検討を光顕的に行った。

IAR時の検体は、OA吸入誘発5分後に、LAR時の検体は、IAR回復後、sGawが、再び吸入誘発前の75%以下に低下し、30分以上継続した時点で各々、気管を摘出して採取した。これとコントロール群（吸入誘発前群）の摘出気管について、組織標本を作製し比較検討した。

摘出した気管はホルマリン固定し、パラフィン切片としてヘマトキシン-エオジン（HE）染色を行い、検討を行った。

## 2-6

### 評価

実験データは、mean±S.E.で表現し、統計学的検定には、unpaired t-testを用い、 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。

体重約 200-300g のモルモット

1日目 Cyclophosphamide 30mg/kg 腹腔内投与(i. p.)



3日目 初回感作 卵白アルブミン1000 $\mu$ g +Al(OH)<sub>3</sub> 100mg i. p.



24日目 ブースター 卵白アルブミン10 $\mu$ g +Al(OH)<sub>3</sub> 100mg i. p.



45日目 吸入誘発 卵白アルブミン4mg/ml $\times$  2分間ネブライザーにて  
吸入誘発

図 2-1 感作、ならびに抗原暴露方法

### 3. 結果

#### 3-1

##### 抗原吸入暴露後のsGaw、およびBALの変化

図 2-2に感作モルモットの抗原吸入暴露後の、sGawの時間経過による推移を示す (n=8)。IARは吸入誘発直後より認められ、sGawは吸入誘発前の $20.7 \pm 3.1\%$ まで低下し、 $1.12 \pm 0.28\text{hr}$ で前値の75%以上までに回復した。LARは吸入誘発後、 $4.89 \pm 0.56\text{hr}$ より出現し、 $1.14 \pm 0.35\text{hr}$ 継続し、この間、sGawは $61.6 \pm 4.0\%$ まで減少した。

今回のプロトコルで感作、抗原吸入暴露した実数は86頭で、そのうち79頭にLARが観察され、約90%程度の割合でLARの発現を認めた。一方、IARは100%の割合で観察された。

図 2-3にBALF中の総細胞数、細胞分画をLAR群 (n=6)、IAR群 (n=5)、コントロール群 (n=5) について検討した結果を示す。総細胞数はLAR>IAR>コントロール群の傾向を示した。細胞分画では、好中球、好酸球、リンパ球ともその割合は、LAR>IAR>コントロール群の順であり、大食細胞は逆の傾向を示した。コントロール群、IAR時、LAR時のBALにおける回収率は各々、 $91.0 \pm 0.9\%$ 、 $82.0 \pm 1.8\%$ 、 $85.3 \pm 1.6\%$ であった。

また、吸入誘発前に測定したPCA titer は、4時間、48時間の両者とも160以上であることを確認した (n=3)。

#### 3-2

##### エンケファリナーゼ活性の測定

図 2-4にエンケファリナーゼ活性を、コントロール群 (n=10)、IAR群 (n=8)、LAR群 (n=10) に分けて示す。気管は誘発前、 $24.1 \pm 0.5(\text{nmol AMeCou}/\text{min}/\text{mg protein})$  に対し、IAR時、 $19.2 \pm 0.8$  ( $p<0.01$ )、LAR時、 $17.7 \pm 0.4$  ( $p<0.001$ ) であり、肺は誘発前  $7.0 \pm 0.7$  に対し、IAR時  $5.2 \pm 0.6$ 、LAR時  $3.9 \pm 0.4$  ( $p<0.001$ ) とLAR時



に強く抑制される傾向を示した。BALFでは、誘発前  $5.9 \pm 0.9$  に対し、IAR時  $3.3 \pm 0.6$  ( $p < 0.05$ )、LAR時  $2.2 \pm 0.2$  ( $p < 0.05$ )と同様の傾向を示した。

### 3-3

#### エンケファリナーゼ分画の検討

図 2-5に、BALF検体、(BALF検体+基質を含む溶液)、更にこれにホスホラミドンを $10^{-6}$ M加えた場合の3つの条件下で、383nmの励起波長でスキャンした際の蛍光波長のスペクトラムのトレースを示す。上段には incubation 直後のものを、下段には30分間 incubation した際の結果を示すが、455nmの蛍光波長で検出される AMeCou は、 $10^{-6}$ Mのホスホラミドンの添加で95%以上抑制され、測定したエンケファリナーゼは、ホスホラミドンに感受性がある分画であることを確認した。また、*in vitro* では、ホスホラミドンは $10^{-6}$ Mで、エンケファリナーゼ活性をほぼ抑制することを確認した。

### 3-4

#### NKA誘発摘出気管切片収縮の検討

薬理的張力測定の結果を、図 2-6に示す。コントロール群 ( $n = 8$ )、IAR群 ( $n = 6$ ) は、ホスホラミドン $10^{-6}$ M添加した場合、その用量反応曲線は左方に移動し、NKA $10^{-6}$ Mにおける収縮反応も有意差を認めたが、LAR群 ( $n = 6$ ) は、両者の解離が小さくなり、NKA $10^{-6}$ Mにおける収縮反応にも有意差を認めなかった。なお、各群ともホスホラミドン $10^{-6}$ Mを添加した場合のNKA $10^{-6}$ Mにおける収縮反応は、 $166.9 \pm 5.5\%$ 、 $167.7 \pm 9.8\%$ 、 $153.0 \pm 13.1\%$  と有意差はなかった。

ホスホラミドン非添加群について、コントロール群 ( $n = 8$ )、IAR群 ( $n = 6$ )、LAR群 ( $n = 6$ ) 間で、NKA $10^{-6}$ Mにおける収縮反応 ( $E_{max}$ )、および、50mM KClによる最大収縮反応の80%の収縮を惹起するNKA濃度の $-\log(pEC_{80})$ をまとめて示す(表 2-1)。LAR群は、

コントロール群と比較して、 $E_{max}$ 、 $pEC_{80}$ とも有意に増強した。IAR群も同様の傾向を示したが、有意差は認められなかった。

### 3-5

#### 組織学的検討

図 2-7にコントロール群、IAR群、LAR群の組織像を示す。

コントロール群では上皮細胞はよく保たれ、炎症性細胞の浸潤は殆ど認められなかった (図 2-7(A))。

IAR群は、好酸球を中心とした炎症性細胞の浸潤が、上皮内に認められている。また、杯細胞化が認められた (図 2-7(B))。

LAR群では、上皮細胞の丈は非常に高くなり、杯細胞化が著明で、好酸球を中心とした炎症性細胞の上皮内への浸潤は、IAR群より更に強く認められた (図 2-7(C1))。また、LAR群では、上皮細胞の剥離が散見された (図 2-7(C2))。上皮細胞剥離はIAR群でも認められたが、LAR群に比較してその程度は軽かった。

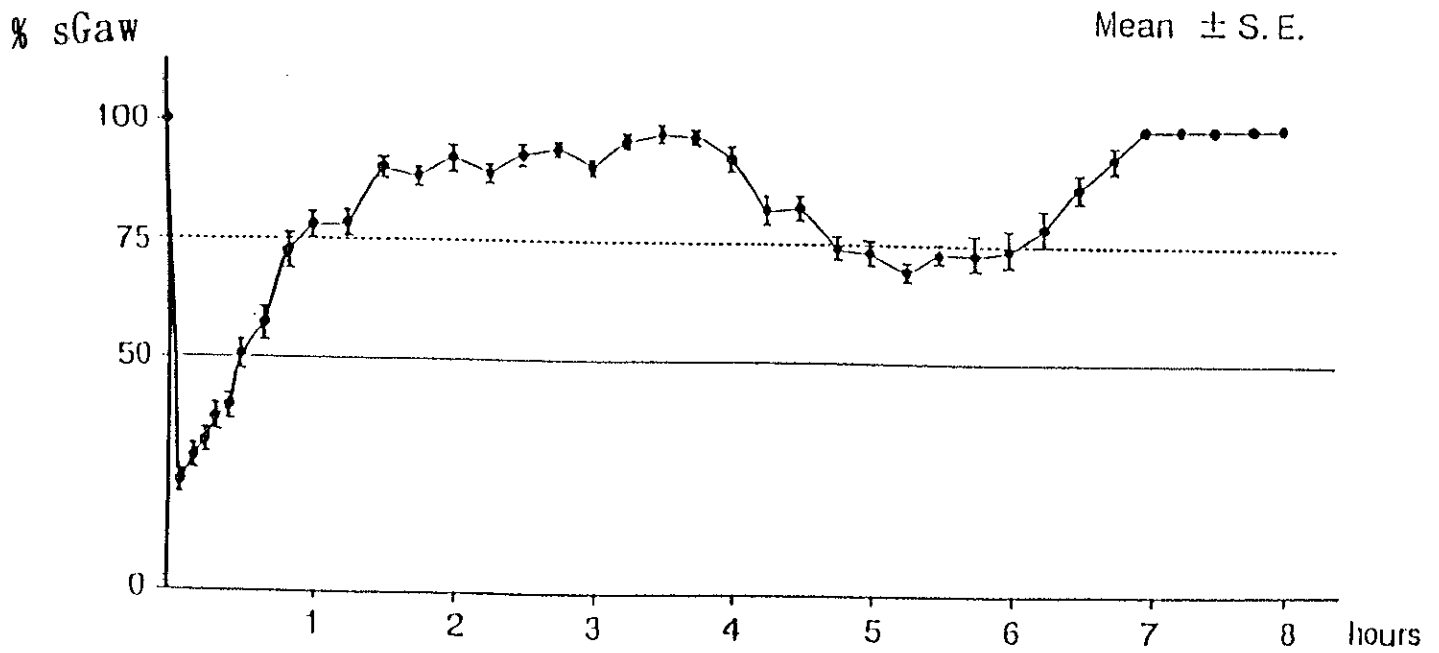


図 2-2 抗原暴露後の時間経過によるsGawの推移

mean ± S. E. (n=8)

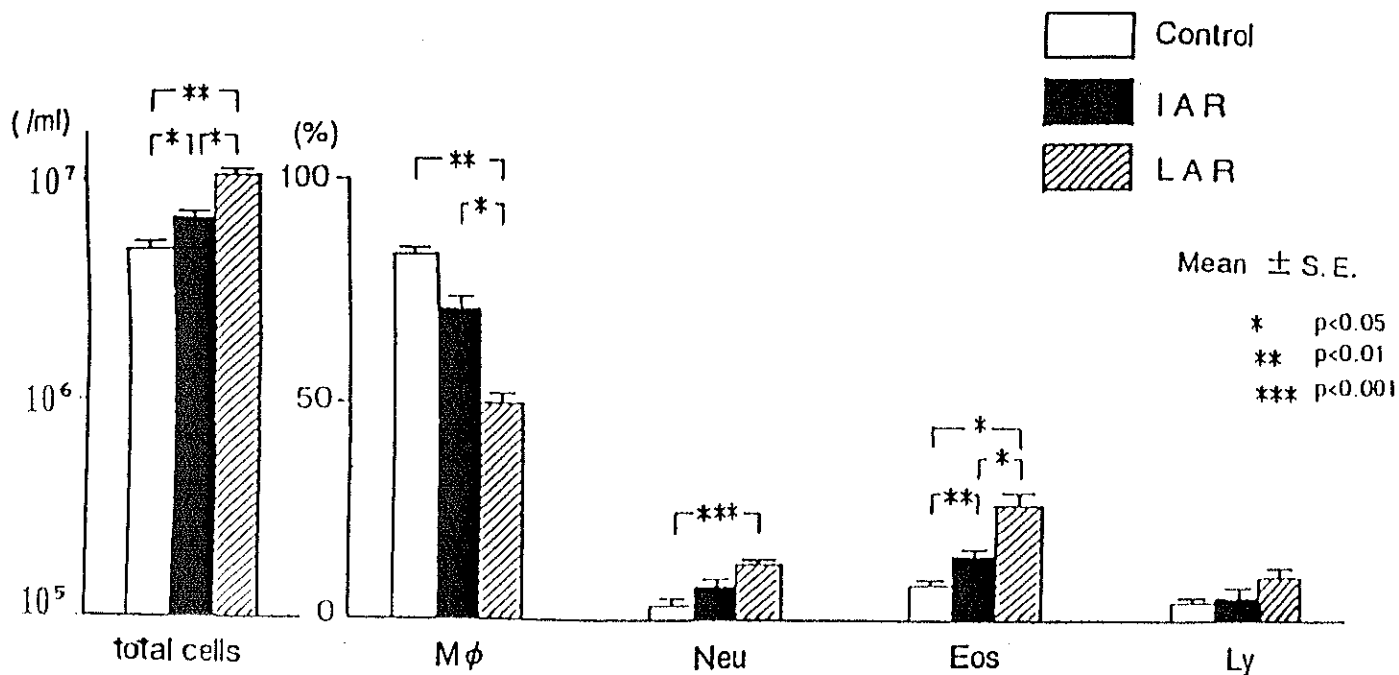


図 2-3 抗原暴露後の気管支肺胞洗浄液中の総細胞数、および細胞分画

コントロール(n=6), IAR(n=5), LAR(n=5)を各々 白抜き、黒、および斜線のカラムで示す。

mean  $\pm$  S.E. \*p<0.05 \*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001 を示す。

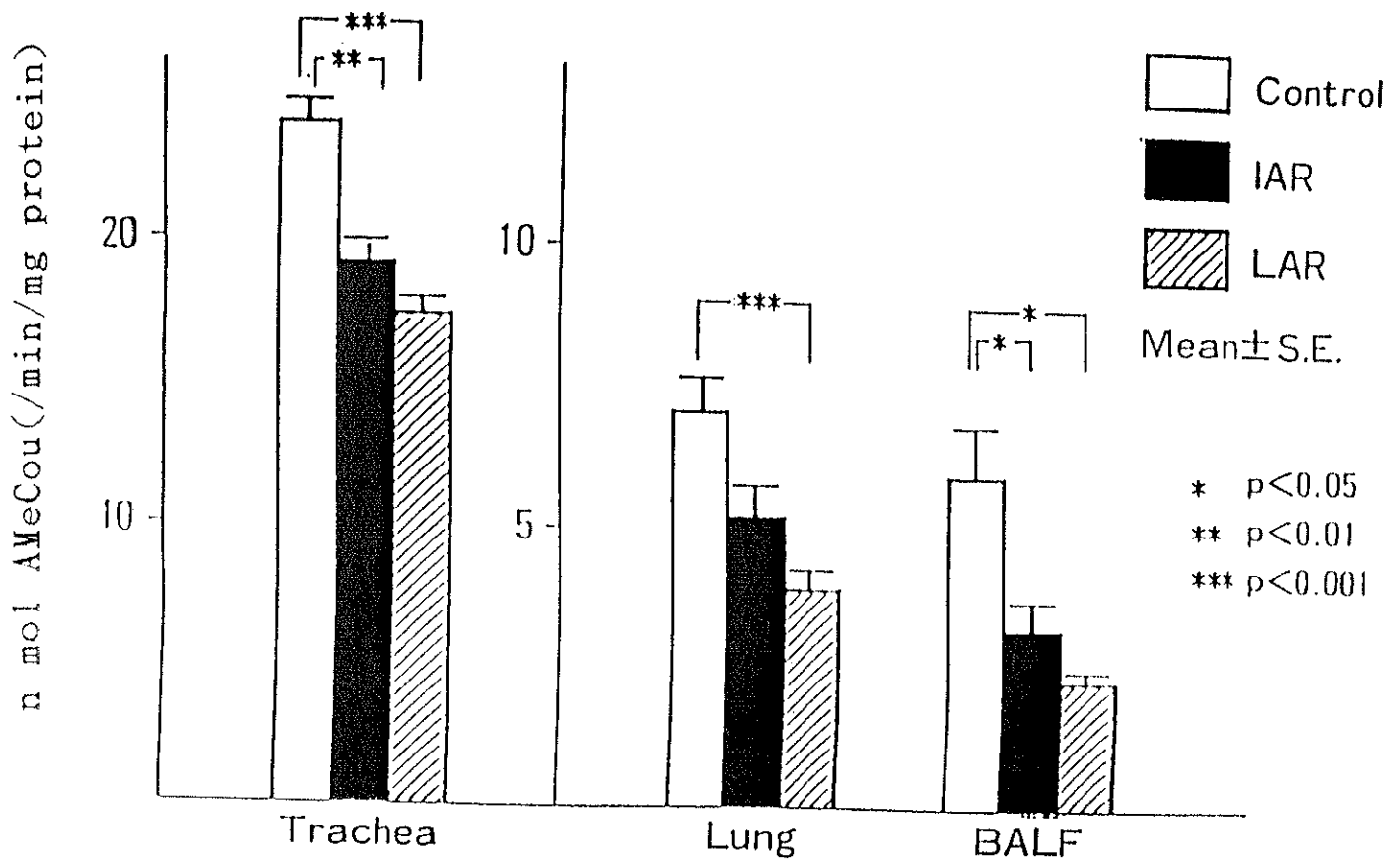


図 2-4 モルモット気管、肺、気管支肺胞洗浄液中の  
エンケファリナーゼ活性

mean ± S. E. (n mol AMeCou/min/mg protein)

コントロール(n=10), IAR(n=8), LAR(n=10)を各々 白抜き、黒、および斜線のカラムで示す。

\*p<0.05 \*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001 を示す。

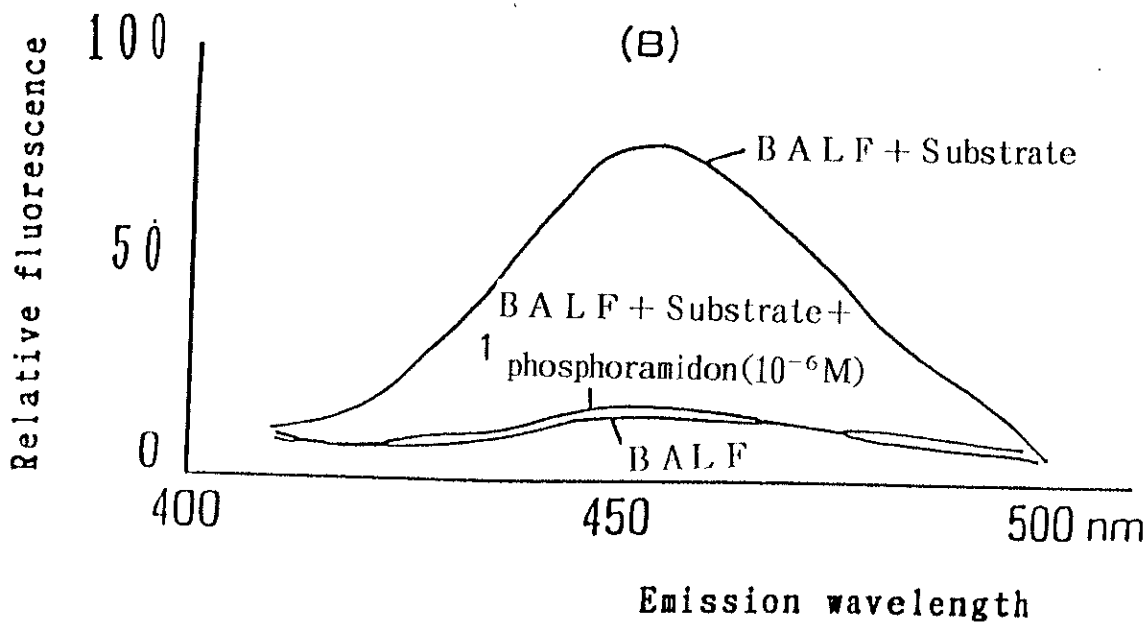
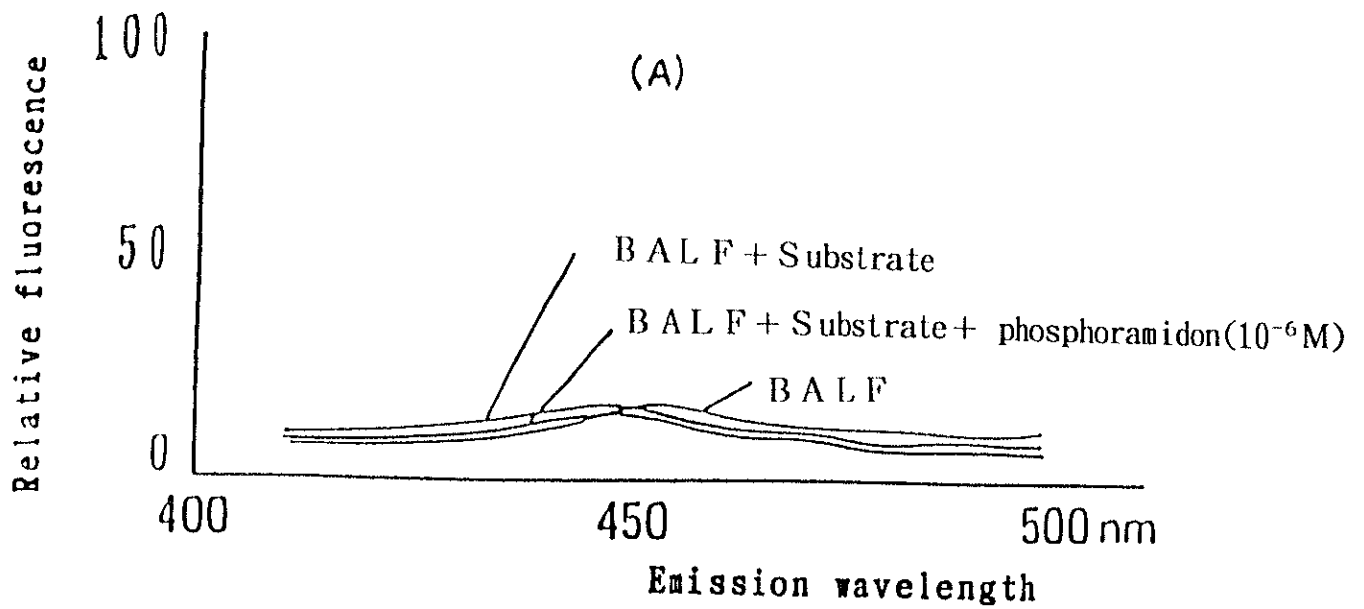


図 2-5

ホスホラミドンがエンケファリナーゼ活性におよぼす影響

383nm の励起波長でスキャンし、蛍光波長のスペクトラムを分枝蛍光光度計にて測定した。

(A) 25°C にて incubation 直後の検体

(B) 25°C にて30分間 incubation した検体

(BALF+基質) で30分間 incubation した検体ではAMcCouが検出されたが、ホスホラミドン $10^{-6}M$ の存在下では、この反応は著明に抑制された。

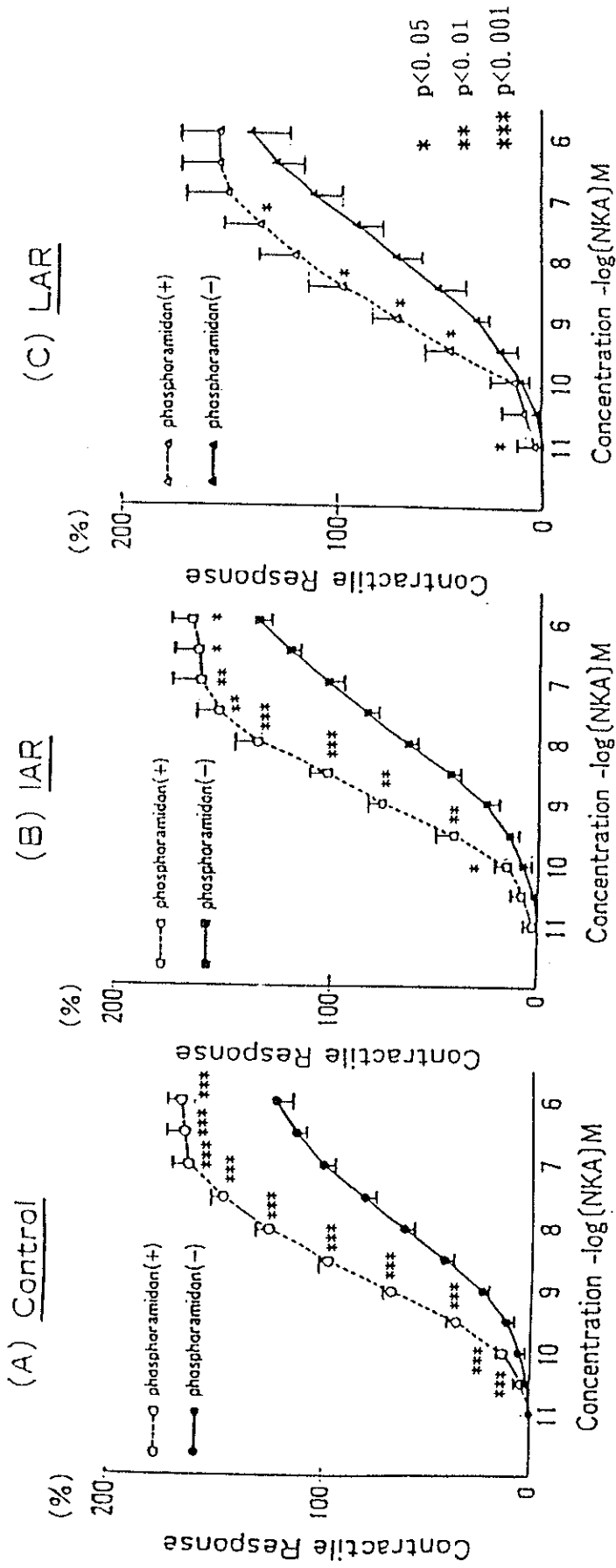


図 2-6 ニューロキニンAの用量反応曲線に対する  
ホスホラミドンの影響

(A) コントロール (n=8)

(B) IAR (n=6)

(C) LAR (n=6)

mean±S.E. \*p<0.05 \*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001 を示す。

表 2-1

	Control	IAR	LAR
pEC <sub>80</sub>	7.45±0.10	7.47±0.08	7.90±0.18*
E <sub>max</sub>	123.4±5.4	135.3±3.4	146.6±9.8*

ニューロキニンA誘発薬理的張力測定の結果  
—コントロール、IAR、LAR間の比較—

pEC<sub>80</sub>は、50mM KClで生じる収縮反応の80%の収縮を生ぜしむ  
NK A濃度の $-\log$ を

E<sub>max</sub>は、NK A $10^{-6}$ Mにおける収縮反応を50mM KClで生じる収  
縮反応に対する%で表示する。

nはコントロール(8)、IAR(6)、LAR(6)

\*p<0.05を示す。



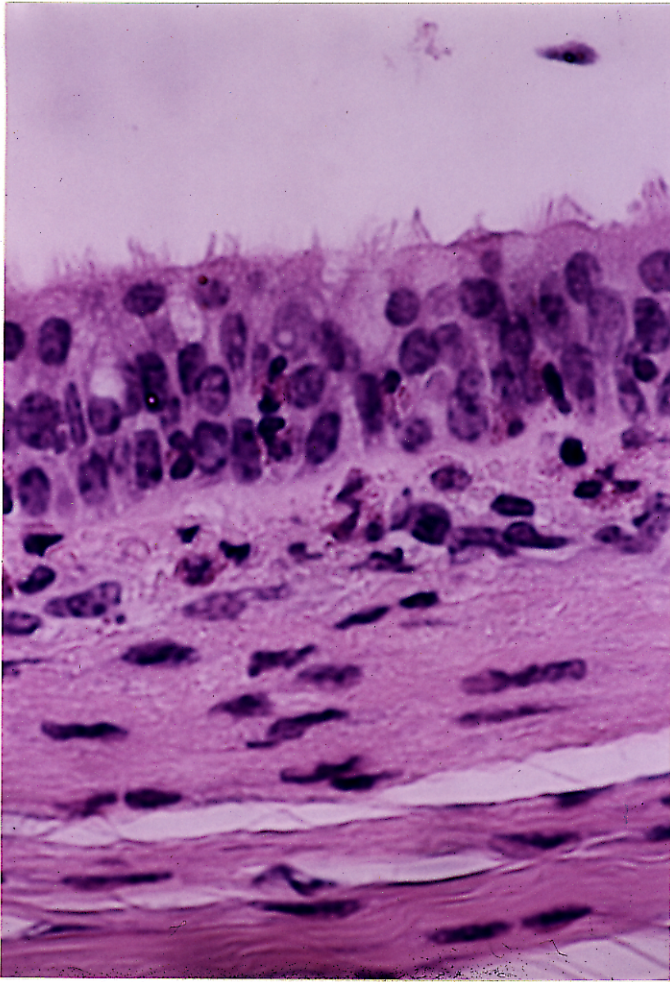


図 2-7(A)

モルモット気管の光顕像（コントロール群）

上皮細胞はよく保たれ、炎症性細胞はほとんど認められない。

H. E. 染色（×400）

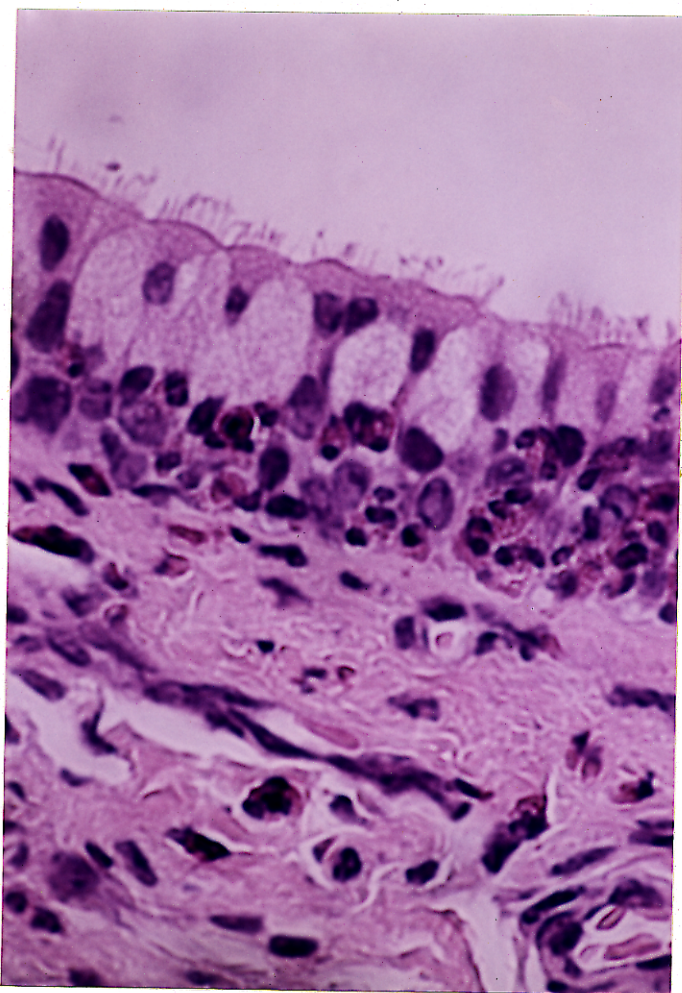


図 2-7(B)

モルモット気管の光顕像 (I A R 群)

上皮内に炎症性細胞の浸潤を認め、杯細胞化が認められた。

H. E. 染色 (×400)

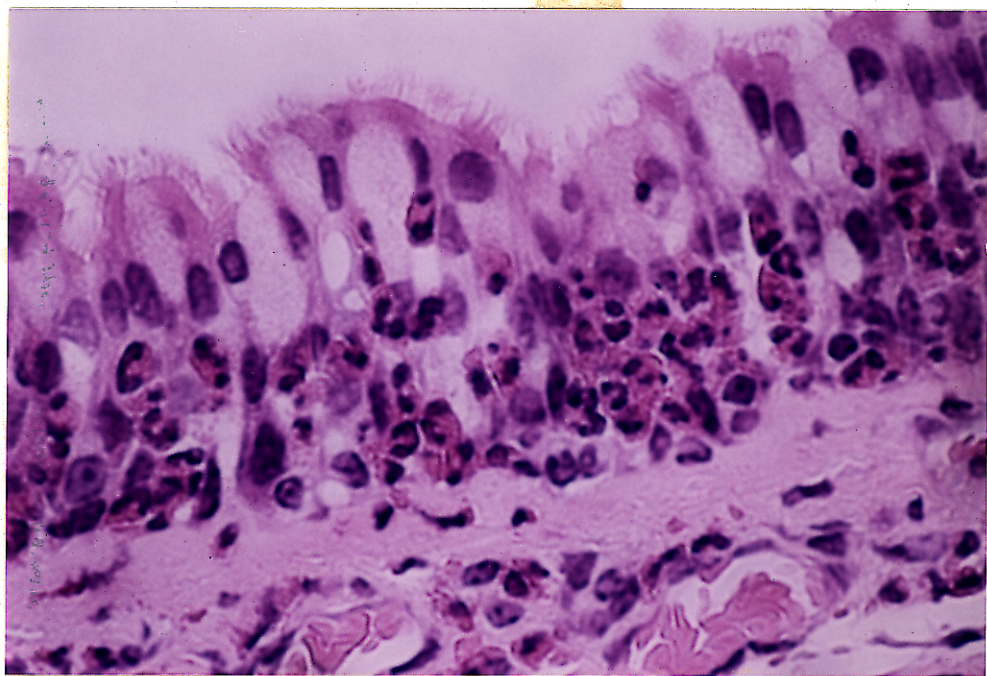


図 2-7(C1)

モルモット気管の光顕像 (LAR群)

上皮細胞の丈は増高し、浮腫が存在する。

上皮内への炎症性細胞の浸潤、杯細胞化が著明に認められる。

H. E. 染色 (×400)

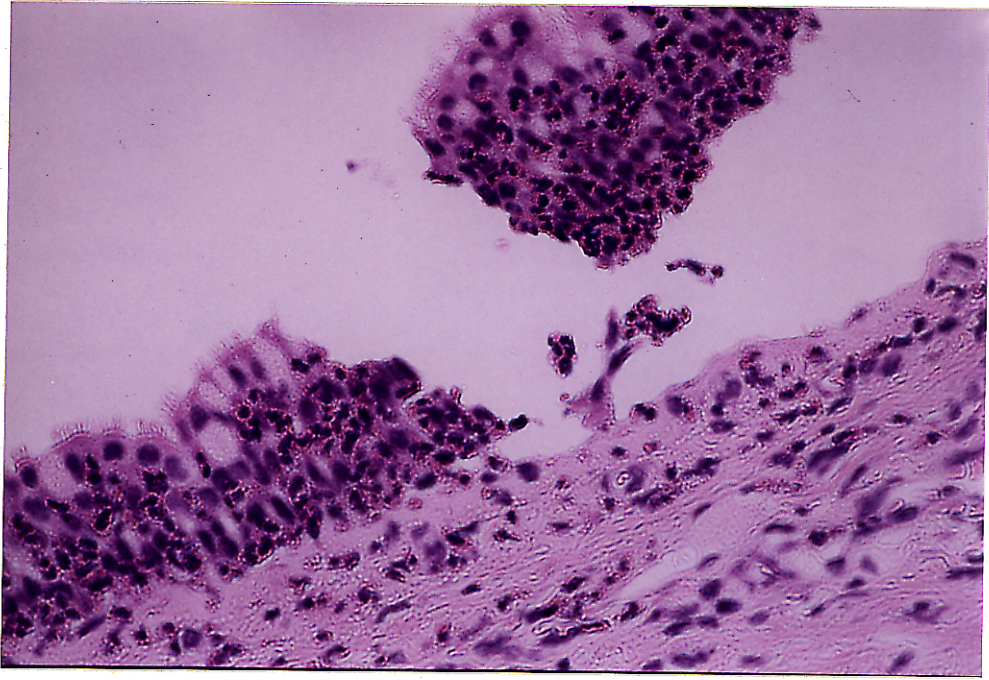


図 2-7(C2)

モルモット気管の光顕像 (LAR群)

上皮内への炎症性細胞の浸潤が著明で、上皮細胞の剥離が散見された。

H. E. 染色 (×200)

#### 4. 考察

本章では、二相性反応モデルにおけるエンケファリナーゼ活性の動態について検討した。気管、肺におけるエンケファリナーゼ活性は、IAR、LAR時ともに抑制されたが、LAR時には特にその傾向が強く、また、薬理的張力測定においても、LAR時に採取した標本は、NKAに対する反応が増強し、その用量反応曲線は、ホスホラミドンを添加した場合のものに近づいた。今回の結果から、組織中のエンケファリナーゼ活性の低下が、IARおよびLARの発症機序、あるいは、その後に生じる気道過敏性亢進の病態などに関連する可能性が示唆された。

本章においては、まず、二相性の反応をなるべく確実に発現してくるモデルの作成から始まった。特に、LAR発現のメカニズムに関しては、いまだ詳細は不明であり、モデルの作成は各施設で試行段階である。

Anderssonは、感作抗原量が多いほどIARの反応が増強し、また、cyclophosphamideで前処置することで、気道反応の増大を認め、IgE抗体の獲得も増加し、更に、ブースターにより、IgE抗体、およびIgG<sub>1</sub>抗体も増加した報告している (Andersson, 1981)。

Cyclophosphamideは、suppressor T細胞を排除して、LARが出現しやすくなるという報告 (森川, 1986)や、ヒトにおいても、吸入誘発時、二相性反応を呈する例では、BALF中のsuppressor T細胞が減少していたという報告 (Gonzales, 1987) もあり、cyclophosphamideを使用することによりLARが出現しやすくなったものと考えられる。また、LARの発現には、IgE抗体とともにIgG<sub>1</sub>抗体も関与していると考えられ (Ito, 1986)、ブースターはこの点でも意義があると考えられる。

図 2-3に、BALF中の総細胞数、および細胞分画を示す。LARにおいて、総細胞数、好酸球、好中球の増加が認められこれまでの報告と一致する結果が得られており、LARの病態には、好酸球、好中球などが、深く関与しているものと推察される。今回のプロトコルに従って感作、誘発したにもかかわらず、LARを発現しなかったモルモットに関して、同様に抗原吸入誘発後、5-6時間目にBALを施行し検討した結果、総細胞数、好酸球、好中球とも増加している傾向が認められた。この事実から、

LARと判定されるほどの気道収縮を惹起するまでには至らない場合でも、IAR後、気道の細胞構成には変化をきたしている例が多いものと考えられた。

図 2-4に示すようにIAR、LAR時には、含有蛋白にて補正したエンケファリナーゼ活性は有意に低下した。気管、肺に関しては蛋白補正前のエンケファリナーゼ活性もIAR、LAR時には低かったのに対し、回収されたBALF中の総活性は、IAR ( $96.4 \pm 8.5$  nmol AMeCou/min) > LAR ( $69.9 \pm 5.2$ ) > コントロール ( $61.1 \pm 4.9$ )の順であり、BALF中に放出されるエンケファリナーゼは、誘発後かなりの量になるものと思われる。この気道系からの逸脱がエンケファリナーゼ活性が低下する機序のひとつと考えられる。

図 2-7に示したように、誘発後の組織の検討では、好酸球、好中球を中心とした炎症性細胞の気道上皮への浸潤が著しく、殊にLAR時の標本では気道上皮細胞の剥離像が散見された。また、IAR、LAR時とも杯細胞の著しい増加を認め、更にLAR時には、組織の浮腫化が強く認められた。エンケファリナーゼは気道系では、平滑筋、分泌腺組織、神経線維などにも存在するが(Borson, 1986; Sekizawa, 1987b)、その多くは上皮細胞中に存在すると考えられている(Candenas, 1992)。そのため、吸入誘発後の気道上皮細胞の剥離や障害に伴い、エンケファリナーゼが減少するものと考えられる。また、吸入誘発後には、タキキニン等のエンケファリナーゼの基質になる物質が増加し(Kohrogi, 1991)、これを分解するため消耗性に減少する可能性も考えられる。

薬理的張力測定の結果は、図 2-6、および表 2-1に示す通りである。LAR時に採取した気管平滑筋標本はコントロール群に比較して、NKAに対する収縮反応が増強し、また、ホスホラミドン $10^{-6}$ M添加したものと用量反応曲線の解離が小さくなった。このことは、LAR時に摘出した気管平滑筋において、エンケファリナーゼ活性が低下している可能性を示したものであり、ホモジネートで測定した活性の動態と一致するものである。LAR時には、エンケファリナーゼ活性が低下し、タキキニン類などに対し、過大な反応を呈する可能性が推察された。IAR時にも同様の傾向を認めたが、 $E_{max}$ 、 $pE C_{50}$ はコントロール群と比較して有意差を認める

までには至らなかった。

エンケファリナーゼは、前章で示したようにタキキニン類の他、ETなどの気道収縮物質を分解することが知られている。その活性の低下により、これらの気道収縮物質に対して過剰な反応を示したり、咳嗽が誘発されやすくなることが報告されている(Kohrogi, 1988)。また、その活性は、喫煙(Dusser, 1989a)や感染(Dusser, 1989b; Borson, 1989)で抑制されることが報告されている。アレルギー反応との関連では、*in vitro*の系において、OA感作後のモルモット摘出気管をOAチャレンジした際、ホスホラミドンを投与することで収縮反応が長く継続することから、免疫反応で気管収縮が惹起される場合にタキキニン様の物質が放出され、この際エンケファリナーゼが重要な役割を演じている可能性が報告され、ロイコトリエンC<sub>4</sub>が、タキキニン様の物質を放出する可能性のある物質としてあげられている(Kohrogi, 1991)。LARの発現を担う化学伝達物質はいまだ特定されていないが、ロイコトリエンC<sub>4</sub>が関与している可能性も挙げられている(Yamai, 1989; Cristina, 1989; 州之内, 1991)。ロイコトリエンC<sub>4</sub>は、タキキニン様の物質を放出することで、LARの発現に関与しているのかも知れない。

今回の結果と合わせて考えると、感作モルモットにおいては吸入誘発後、好酸球や好中球などの炎症細胞の浸潤により気道上皮細胞の剥離や、気道上皮細胞の機能に障害を受けるなどの機転でエンケファリナーゼ活性が低下し、種々の気道収縮物質に対して反応性が亢進する状況が準備されると考えられる。この状態でタキキニン類やETなどの物質が放出されると気道収縮や気管腺分泌亢進など、LARの病態に近い現象が発現してくる可能性が推察される。臨床上LARに有効とされる副腎皮質ホルモン薬は、エンケファリナーゼ活性を上昇させることが報告されており(Borson, 1991)、気管支喘息を含めて種々の呼吸器疾患に有効な機転のひとつに、タキキニン類による気道収縮や分泌亢進を抑制して作用を発現している可能性も考えられる。

今回の結果から、二相性反応を呈するモルモット喘息モデルにおいては、IAR、LARとも気道中におけるエンケファリナーゼ活性の低下を認め、殊にLARにおいては、その傾向が強く、このことが病態を惹起、

修飾している可能性が示唆された。今後、LAR後のエンケファリナーゼの回復の動態等について更に検討を進めたいと考えている。



## 5. まとめ

IAR、LARの両者を呈する、二相性の喘息動物モデルをモルモットにおいて作成し、気管、肺のホモジネート、およびBALFにおいてエンケファリナーゼ活性を測定した。

また、IAR、LARを生じた時点で、気管を摘出して、NKAで誘発して薬理的張力測定を行った。

1. IAR時、LAR時のエンケファリナーゼ活性は、気管では、各々誘発前の79.7%、73.4%、肺では各々誘発前の74.3%、55.7%と低下し、特にLAR時に強く抑制される傾向を示した。また誘発後、BALF中には、相当量のエンケファリナーゼが逸脱してくるものと推察された。
2. 摘出気管平滑筋を用いた薬理的張力測定においてもLAR時に採取した標本は、NKAに対する反応が強く、その用量反応曲線は対照群と比較すると左方移動し、ホスホラミドンを添加した場合のものに近づいた。

以上の結果より、IAR、LAR時には気道のエンケファリナーゼ活性が抑制されている可能性が示唆された。この傾向は特にLAR時には強く、このエンケファリナーゼ活性の低下がLARの病態に関与している可能性が推察された。