

終章

今回の研究により得られた知見とその意義についてまとめて述べたい。

第1章において、エンケファリナーゼ阻害剤であるホスホラミドンが、ET-1の気道収縮作用を増強させることを明らかにした。この実験系は、大きく3つよりなるが、小動物用体プレチスモグラフを用いた吸入実験で、最初にデータが得られた。この体プレチスモグラフは、Agrawalの報告を参考に作製し、ヒスタミンやメサコリンといった、古典的な気道収縮物質の吸入で基礎データを集めた。次いで、ET-1やNKA、SPなどの吸入実験を行ったが、これらのペプチドを用いた場合には、最大濃度まで吸入させてもsGawに変化は生じなかった。NKA、SPなどは、エンケファリナーゼで分解されることが既に報告されていた。そこで、その阻害剤であるホスホラミドンを吸入させた直後に、NKAやSPを吸入させたところ、sGawの低下が観察された。この実験の際、偶然にNKA、SPにかえてET-1を吸入させたところ、非常に強力な気道収縮が認められ、sGawの著しい低下とともに、モルモットにチアノーゼ、喘鳴が観察され、死亡するモルモットもみられた。何回かの予備実験の後、プロトコルを決めて行った吸入実験は再現性も良好であり、エンケファリナーゼが低下した状態では、単独では気道収縮を惹起し得ない濃度のET-1でも、その作用が発現されることを明らかにした。

この体プレチスモグラフによる測定は、無麻酔、自発呼吸下という、非常に生体に近い状態で、sGawが観察できるという特長があるが、その一方で循環系のパラメーターがモニターできない、呼吸回数の調節ができないため、被検薬の吸入量がまちまちである、等々いくつか問題点もあり、このシステムで得られた結果と、Bioassay法 (Van Rossum, 1963)、ET-1の肺実質エンケファリナーゼによる分解の検討、の2つ実験を追加した。これらの結果を総合して、ET-1は、エンケファリナーゼが低下した状態でその作用が発現されることを明らかにした。

第2章は、小動物用体プレチスモグラフを用いて、二相性の反応を呈するモルモット喘息モデルを作成することから始めた。喘息モデルに関しては、多くの施設で研究が行われ、モルモットの喘息モデルに関しても様々な感作方法が発表されている。IARは、どこの施設でも発現率は、ほぼ100%と報告しているが、LARに関しては、まちまちである。その中で、今回作成、使用したモデルは、LARの発現率が非常に高かった。

Cyclophosphamideという、非生理的な物質を用いている点で問題があるが、逆に、cyclophosphamideを用いることで、LARが生じやすくなったということから、LARの発症のメカニズムの一端が推し量られる。

今回は、このモデルを用いて気道組織中のエンケファリナーゼ活性の測定、NKAに対する反応性を検討し、IAR時、LAR時には気道組織中のエンケファリナーゼ活性が低下し、摘出気管平滑筋のNKAに対する反応が増強することを明らかにした。この傾向はLAR時に特に強く、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を示した。これまでの報告では、LARの発現に深く関与している物質として好酸球、好中球、血小板、血小板活性化因子などが挙げられているが、LARの複雑な病態を考えると、この他にも、様々な因子が絡み合って関与している可能性が高いと考えられる。エンケファリナーゼと二相性の喘息反応との関係では、これまでのところ報告がなく、今後、気道過敏性の獲得などとも関連づけて、更に検討を重ねたいと考えている。

また、我々は喘息とETの関連をこの喘息モデルを用いて検討しており、ETの拮抗剤、あるいは抗体を用いた場合に、IAR、LARにおよぼす影響についても今後、更に解明が進むものと期待している。

稿を終えるにあたり、終始御懇切なる御指導と御鞭撻を賜った恩師、筑波大学臨床医学系 長谷川鎮雄教授に深く謝意を表します。

生化学的研究において御指導賜った筑波大学基礎医学系 杉田良樹教授、薬理学的研究による解析に御指導賜った基礎医学系 後藤勝年教授に深く感謝致します。

また、日々の実験、研究の多方面にわたり御援助、御協力戴いた臨床医学系 吉澤靖之助教授、大塚盛男講師、佐藤哲夫講師、矢野平一講師、本間敏明講師に深く感謝致します。更に、医学研究科での研究において、御指導、御助言をいただいた 内田義之医学博士、斎藤武文医学博士、亀山昌明医学博士、井上雅樹医学博士、坂本透医学博士、野村明広医学博士、濱田雅史医学博士、大塚真人医学博士、二宮浩樹医学博士、石井幸雄医学博士、早乙女幹朗医学博士、武田裕子医学博士、渡辺東医学士、遠藤健夫医学士、青木弘道医学士、野口佳子医学士、杜盾医学士、ならびに青木繁公女史、その他、多大なる御援助御協力下さった方々に深く感謝致します。

本文の内容の一部および大学院在学中におけるその他の研究は以下の学会にて報告した。

American Thoracic Society, Annual Meeting(Boston, MA, USA)	May, 1990
American Thoracic Society, Annual Meeting(Anaheim, CA, USA)	May, 1991
第30回日本胸部疾患学会総会	(東京) 4月, 1990
第31回日本胸部疾患学会総会	(大阪) 4月, 1991
第32回日本胸部疾患学会総会	(札幌) 5月, 1992
第26回日本臨床生理学会総会	(東京) 10月, 1989
第27回日本臨床生理学会総会	(長崎) 10月, 1990
第28回日本臨床生理学会総会	(盛岡) 10月, 1991
第39回日本アレルギー学会総会	(東京) 9月, 1989
第42回日本アレルギー学会総会	(仙台) 10月, 1992

また、本論文の内容の一部、および大学院在学中におけるその他の研究内容は、以下の論文に発表した。

野村明広、石井幸雄、早乙女幹朗、大瀬寛高、亀山昌明、遠藤健夫、二宮浩樹、内田義之、長谷川鎮雄。 気道上皮と気道平滑筋収縮—エンドセリン— *呼吸* 10:940-945, 1991.

Uchida, Y., Saotome, M., Nomura, A., Ninomiya, H., Ohse, H., Hirata, F., Hasegawa, S. Endothelin-1-induced relaxation of guinea pig trachealis muscle. *J Cardiovasc Pharmacol* 17(Suppl 7):S210-S212, 1991.

Nomura, A., Ninomiya, H., Saotome, M., Ohse, H., Ishii, Y., Uchida, Y., Hirata, F., Hasegawa, S. Multiple mechanisms of bronchoconstrictive response to endothelin-1. *J Cardiovasc Pharmacol* 17(Suppl 7):S213-S215, 1991.

早乙女幹朗、二宮浩樹、野村明広、大瀬寛高、遠藤健夫、内田義之、長谷川鎮雄。 モルモット気管平滑筋におけるエンドセリン-1誘発性弛緩反応。 *アレルギー* 40:1377-1383, 1991.

Uchida, Y., Hamada, M., Kameyama, M., Ohse, H., Nomura, A., Hasegawa, S., Hirata, F. ET-1 induced bronchoconstriction in the early phase but not late phase of anesthetized dogs is inhibited by indomethacin and ICI 198615. *Biochem Biophys Res Commun* 183:1197-1202, 1992.

Ninomiya, H., Uchida, Y., Saotome, M., Nomura, A., Ohse, H., Matsumoto, H., Hirata, F., Hasegawa, S. Endothelins contract guinea pig tracheas by multiple mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther* 262:570-576, 1992.

大瀬寛高、遠藤健夫.

気道系におけるエンケファリナーゼの役割.

医学の歩み 160:131, 1992.

大瀬寛高、野村明広、亀山昌明、二宮浩樹、早乙女幹朗、遠藤健夫、濱田雅史、渡辺東、内田義之、長谷川鎮雄.

エンドセリン-1の気道収縮作用に対するエンケファリナーゼ阻害剤の影響.

日本胸部疾患学会雑誌 30:1063-1071, 1992.

大瀬寛高、野村明広、亀山昌明、二宮浩樹、早乙女幹朗、遠藤健夫、野口佳子、濱田雅史、杜盾、橋本健一、渡辺東、内田義之、長谷川鎮雄.

NKAの気道収縮作用に対するエンケファリナーゼの影響.

日本臨床生理学会雑誌 22:397-403, 1992.

大瀬寛高、野村明広、亀山昌明、二宮浩樹、早乙女幹朗、遠藤健夫、濱田雅史、大塚真人、石井幸雄、渡辺東、坂本透、内田義之、長谷川鎮雄.
イブジラスト (KC-404) の気道平滑筋に及ぼす影響について.

日本臨床生理学会雑誌 22:405-410, 1992.

大瀬寛高、野村明広、遠藤健夫、野口佳子、早乙女幹朗、二宮浩樹、濱田雅史、渡辺東、杜盾、内田義之、長谷川鎮雄.

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.

アレルギー 42:1993. (掲載予定)

大瀬寛高、遠藤健夫、野口佳子、杜盾、野村明広、二宮浩樹、早乙女幹朗、橋本健一、濱田雅史、渡辺東、内田義之、長谷川鎮雄.

ET-1の気道収縮作用に対する抗アレルギー薬の影響についての検討.

日本臨床生理学会雑誌 23:1993. (掲載予定)