

氏 名（本籍） 鈴 木 俊 郎

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 第 3080 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 10 年 9 月 9 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 63 年 3 月 25 日
北海道大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 ヒト好中球エラスターゼの吸入により誘発された
気道収縮および気道過敏性と、recombinant Half-length Secretory Leukoprotease Inhibitor (r1/2SLPI) の防御作用に関する研究

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教授 白 土 邦 男 教授 佐々木 英 忠

教授 貫 和 敏 博

論文内容要旨

【目 的】

ヒト好中球エラスターゼ (Human Neutrophil Elastase : HNE) の吸入が, 気道収縮と気道過敏性におよぼす影響とそのメカニズムをモルモットを用いて検討し, さらに HNE の吸入によって生じるプロテアーゼと抗プロテアーゼのアンバランスに対する r1/2 SLPI の防御効果を検討し, 炎症性肺疾患における r1/2 SLPI の治療薬としての可能性を明らかにすることを目的とした。

【方 法】

ハートレイ系雄性モルモットを用い, ウレタン麻酔下に, 頸動脈にポリエチレンチューブを挿入し, 薬剤投与の経路とした。頸部にて気管切開を行い, 切開孔より気管カニューレを挿入, レスピレーターによる人工換気を行った。気道内圧と食道内圧をそれぞれ気管カニューレと食道カテテルから測定し, transpulmonary pressure を気道内圧と胸腔内圧 (食道内圧に等しいと仮定) の差として計算した。transpulmonary pressure, 気流速度, 換気量から肺抵抗 RL を計算し, 気道収縮の指標とした。レスピレーターと気管カニューレの間に設置した超音波ネブライザーによって, HNE の吸入を行い, 気道収縮への影響を検討した。HNE の吸入前後で, 静脈内投与した 5-hydroxytryptamine (5-HT) に対する肺抵抗の用量反応曲線を作成し, 気道過敏性を評価した。さらに, 静脈内投与された r1/2 SLPI の気道収縮と気道過敏性に対する防御効果を検討した。気管支肺胞洗浄液の総細胞数と肺内気管支の組織学的検討も行った。

【結 果】

HNE の吸入 (250 μ g/ml, 3 分間) によって, モルモットの肺抵抗 RL は 194 ± 18 から 461 ± 42 cm H₂O/L/s に有意に増加し (mean \pm SEM, $p < 0.001$), 気道収縮が誘発された。アトロピン (5 mg/kg) を HNE の吸入 30 分前に静脈内投与すると, HNE により誘発された気道収縮は部分的だが, 有意に抑制され ($p < 0.05$), HNE 誘発性気道収縮には副交感神経系の興奮が部分的に関与していることが示唆された。肺抵抗を 200 % 増加させるのに必要な静注 5-HT の投与量 (PD 200) は, HNE の吸入終了 30 分後には 10.0 ± 1.2 から 6.5 ± 0.8 μ g/kg に有意に減少し ($p < 0.001$), 気道過敏性の亢進が認められた。HNE の吸入終了 45 分後に施行された気管支肺胞洗浄液中の総細胞数は有意に増加していた ($p < 0.05$)。肺内気管支の組織学的検討では, 気管上皮の傷害, 粘液による気道内腔の閉塞, そして単核球と多核球の気道上皮への浸潤が認められた。

これらの組織学的変化が、HNEにより誘発された気道過敏性の原因になっていると考えられた。HNEの吸入5分前にr1/2 SLPI (30mg/kg)を静脈内に投与すると、r1/2 SLPIはすみやかに気道表面に分布し、HNEの酵素活性を阻害することによって、肺抵抗の増加、気道過敏性の亢進、気管支肺胞洗浄液中の総細胞数の増加を有意に抑制した（それぞれ、 $p<0.05$ 、 $p<0.01$ 、 $p<0.05$ ）。

【考 察】

以上の結果からHNEは、好中球が浸潤する慢性閉塞性肺疾患などの各種の炎症性肺疾患において、気道収縮の誘発と気道過敏性の亢進に重要な役割を果している可能性がはじめて示唆された。さらに、静脈内投与されたr1/2 SLPIは、HNEの吸入により誘発された気道収縮および気道過敏性を抑制することもはじめて示され、r1/2 SLPIは抗プロテアーゼ療法として有用であると考えられた。プロテアーゼと抗プロテアーゼのアンバランスは、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、成人呼吸促迫症候群（ARDS）など各種の炎症性肺疾患の成因のひとつと考えられているが、r1/2 SLPIは強力な抗プロテアーゼ作用を持ち、これらの炎症性肺疾患に対する新しい治療薬としての発展が期待される。

審査結果の要旨

本研究はモルモットに経気道的にヒト好中球エラスターゼ (Human neutrophil elastase : HNE)を吸入させ、気道過敏性が誘導されるかどうかを検討し、気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患における気道過敏性の獲得メカニズムを明らかにしようとしたものである。更に、この阻害薬である recombinant half-length secretory leukoprotease inhibitor (r1/2SLPI) を静脈内投与し、ヒト好中球エラスターゼに対する防御作用についても検討した。

実験動物としてはモルモットを使用し、麻酔下、人工換気下に肺抵抗を求め、種々の薬物に対する反応を評価しているが、実験方法もオーソドックスな方法を採用しており問題がない。

本研究において得られた主な結果は次の如くである。

- (1) HNE の吸入により肺抵抗が前値の 2 - 3 倍に増加し、気道収縮が誘発されたことを示した。
- (2) この HNE 吸入により誘発された気道収縮はアトロピン前投与により部分的に抑制され、HNE 誘発気道収縮には副交換神経系の興奮が関与している事を示した。
- (3) HNE 吸入により 5-hydroxytryptamine(5-HT) に対する気道過敏性の亢進も認められた。
- (4) HNE 吸入後の気管支肺胞洗浄液中には総細胞数が増加し、肺内気管支壁の組織学的検討では気道上皮の障害、粘液による気道腔の閉塞、炎症細胞の気道上皮への浸潤が認められた。
- (5) HNE 吸入前に r1/2SLPI を静脈内投与により前処置しておくこと HNE 吸入による肺抵抗の増加、気道過敏性の亢進、気管支肺胞洗浄液中総細胞数の増加が抑制され、r1/2SLPI の治療への応用の可能性が示された。

以上の如く、本研究においてはヒト好中球エラスターゼは好中球が浸潤する慢性閉塞性肺疾患などの各種の炎症性肺疾患において、気道収縮の誘発と気道過敏性の亢進に重要な役割を果たしている可能性を示唆した。さらに静脈内投与された r1/2SLPI は各種のエラスターゼ関連気道疾患の治療に有用である可能性も示した。このように、本研究では気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患における気道過敏性の獲得メカニズムの一つを示したことに止まらず、新しい治療法の開発の可能性をも示すなど将来への研究発展も期待でき、博士論文として価値の高いものと言えよう。