シンポジウム アレルギーと呼吸器疾患

（1）喘息発症の要因に関連して

b) 抗原吸入による気道の生化学的变化

名古屋大学医学部第二内科 佐竹辰夫, 滝 文男

従来の定説によると、既に感作されているアトピー型喘息患者においては、抗原が気道へ入ると、IgE を産生する B-cell が活性化して Ig-E 抗体を異常に多く産生し、しかも、それらの多くが mast cell に固着し、1つの抗原と IgE 抗体の2分子が bridge を形成することにより細胞膜が変質し、内蔵されている histamine などが release されて気管支を収縮させる、とされてきた。しかし、この histamine 中心の classical theory では、近時、強固な収縮因子として注目されてきた leukotriene (LT) などの発現と役割を明確に説明することはできない。

一方、1984年、IgE が増加しない非アトピー型喘息の発作時に関連し、好中球、好酸球などの気道への集積とその役割を重視した non-IgE mast cell system¹⁾の存在が示唆された。

本報告では、アトピー型喘息患者の発作でも、今まで強調されてきた histamine release 中心の IgE-mast cell system のほか、実は non-IgE dependent の system も共存して複雑な病態を形成しているのでないかと推定し、その実態を明らかにすることで治療への展開へ役立てたいと考えた。

I. Leukotriene (LTD₄) による

気管支収縮の特殊性

histamine 収縮との対比

図1は、1984年に発表した気道平滑筋に対する

図1. Histamine および leukotriene D₄によるモルモット気管平滑筋の収縮

chemical mediators の灌流実験である²⁾。Histamine は灌流を中止すると即座に弛緩するのに比し、leukotriene D₄は灌流を中止しても収縮が数十分ないしそれ以上に及ぶという特徴を示した。

一方、抗原吸入誘発試験で即時型、遅発型の二

Symposium on allergy and respiratory diseases

(1)-b. Biochemical changes in the airways after antigen inhalation challenge in asthma

Tatsuo SATAKE and Fumio TAKI, Second Department of Internal Medicine, School of Medicine, Nagoya University Tsurumaicho, Showa-ku, Nagoya

相性を示した症例を点検すると、即時の時はもちろん、遅発相の時にも1秒量の著減をみたが、それ以前にLTの再著増を認めており³⁾、灌流実験におけるLTの持続性収縮という成績が裏付けられた。

私らが外来、あるいは回診時に診ている喘息患者の発作では抗ヒスタミン薬が有効でない症例が少なくないことから、実はLT類による強力、かつ持続性の収縮が加わっているのではないかと推定し、次のプロトコルを展開した。

II. Lung membranes (肺膜画分) における

リン脂質の構成比とアラキドン酸への経路、および自律神経受容体の変化

Leukotrieneの産生はアラキドン酸カスケードによっており、その源は、リン脂質を多く含む肺・気道の粘膜のほか、白血球、好酸球などの細胞膜と推定される。しかも、このような血球はmast cellに比し1000倍以上、気道粘膜の細胞膜に至っては無限に近く存在している。

本報告では、モルモットのlung membranesを対象とした。その理由は、従来の研究に度々みられたhistamine顆粒が異常に多く、かつヒト気道には全く存在しないconnective tissue型のmast cellとは無関係な成績を得たいこと、IgEの産生が殆どないことによる。しかも、私ら⁴⁾⁵⁾は、すでに1974年、気道のcAMP著減のために気道過敏性をもつことを報告しているが、このような特徴をもつモルモットを卵白アルブミン(OA)で感作し、次の3点について検討した。

(1) OA抗原吸入発作時における気管支肺胞洗浄液(BALF)の分析

図2のように、まず、phospholipase活性が上昇、ほぼ同時にLTB₄も上昇する。次いで約3時間遅れで白血球が集積⁶⁾、さらに数時間遅れで好酸球の著しい集積を認めた。

(2) 肺膜画分のリン脂質分析と、それらのOA抗原吸入発作による変化

肺膜画分の構成は主にリン脂質と各種蛋白から成っており、後者のあるものが各種のレセプターとして活動するとされている。

図2. 抗原(2%ovalbumin)吸入感作・発作後の肺膜画分におけるphospholipase活性、および気管支肺胞洗浄液中のLTB₄、好中球、好酸球の推移

表1. 肺膜画分の遊離脂肪酸によぼすphospholipase A₂の影響

	Control	Phospholipase A ₂ 0.1U(2mg protein)
Lauric acid	ND	ND
Myristic acid	0.88±0.14	0.91±0.07
Palmitic acid	8.21±0.77	9.07±0.52
Palmitoleic acid	ND	1.55±0.17
Stearic acid	2.61±0.27	2.96±0.21
Oleic acid	1.13±0.19	3.20±0.43*
Linoleic acid	3.94±0.60	8.43±0.27*
Linolenic acid	ND	0.11±0.05
Eicosatrienoic acid	0.25±0.03	0.39±0.06*
Arachidonic acid	0.63±0.05	3.12±0.29*
Docosahexaenoic acid	0.43±0.07	0.63±0.09*
計	18.10±1.06	30.40±0.85*

mean±S.D. *p<0.01, n=6

そこで、まず肺膜画分のリン脂質を分析した所、コレステロール12%、スフィンゴミエリン9%に比し、フォスファチジルコリン(PC)48%、フォスファチジルエタノールアミン(PE)31%と測定された。なお、フォスファチジイルノシトールも数%と推定されたが、測定できなかった。

さて、発作後では、図3のように、PCが約3/4に、PEが約4/5に減少していた⁷⁾。この原因については、すでに1986年、誘発発作後約15分でphos-

表 2. 肺膜画分の β , α_1 , ムスカリン受容体数と, 抗原 (2% ovalbumin) 吸入の感作・発作による変化

Receptor types	Control group			Experimental group		
	B_{max} , fmol/mg protein	K_d , nM	n	B_{max} , fmol/mg protein	K_d , nM	n
Beta-adrenergic	514 $\pm$ 37	0.60 $\pm$ 0.05	7	342 $\pm$ 33*	0.57 $\pm$ 0.07	7
Alpha-1-adrenergic	25.6 $\pm$ 5.0	1.05 $\pm$ 0.18	7	35.0 $\pm$ 5.0*	1.10 $\pm$ 0.30	7
Muscarinic acetylcholine	55.1 $\pm$ 9.3	0.31 $\pm$ 0.06	7	59.5 $\pm$ 5.4	0.31 $\pm$ 0.06	7

The experimental group consisted of ovalbumin-challenged guinea pigs. Results are mean $\pm$ SD. * p <0.01 vs. control.

図 3. 肺膜画分リン脂質の構成と, 抗原 (2% ovalbumin) 吸入の感作・発作による変化

CO: Cholesterol, PE: Phosphatidylethanolamine, PC: Phosphatidylcholine, SPM: Sphingomyeline

図 4. Flame ionization detectorによる各種リン脂質の定量

phospholipase 活性が約50%増加し作用するためと報告しているが, 今回, 水素炎イオン化検出器により, 図 3 のように, この肺膜画分から lyso-PC を証明できたことにより, phospholipase A_2 の活性上昇によると判断できた。

次に, phospholipase A_2 0.1単位 (OA 吸入感作・発作による β -受容体数の減少度とほぼ同じ変化を起こす量) の作用を受けた膜画分中の遊離脂肪酸をみると, 表 1 のように, アラキドン酸のほ

か, リノール酸, オレイン酸なども数倍に増加していた⁷⁾⁸⁾。かくして, これらが, 肺膜画分の主として PC, 次いで PE から由来するという経路が確認できたわけである。

もちろん, アラキドン酸カスケードと共軌して PAF も生じうるわけである。

(3) OA 抗原吸入発作時の肺膜画分における自律神経受容体数の変化

おのおののリガンドによって測定されたレセプター数は β 514, α_1 26, コリン55であり, α_1 は β の約5%であった。誘発発作後の測定では, 表 2 のように, 最多の β -レセプターが33%減少するのに比し, 最少の α_1 レセプターは37%増加, コリンレセプターは不変であった⁷⁾。もちろん, phospholipase A_2 そのものを作用させた場合でも, dose dependent に同様の結果が得られている。

なお, この33%の β -blockade 状態に isoproterenol を投与した所, cAMP の上昇度は, 対照群に比し55%の上昇に止まっていた⁸⁾。

一方, OA による β レセプターの減少率33%は, コンニャク舞粉による減少率21%⁹⁾を遙かに上回っていること, また, コンニャク舞粉などによる中等度の発作では β -レセプターの減少はないこと, なども確認できた。

すなわち, 各抗原の肺膜画分における自律神経受容体に及ぼす影響度には強弱があり, それには phospholipase A_2 活性の増加度が関与するものと推定された。

なお, 私ども¹⁰⁾は, 既に1983年, H_1 レセプター不変, H_2 レセプター減少傾向と報告している。

III. 細胞膜における phospholipase

A₂活性上昇の因子

Lung membranes では, phospholipase A₂活性の上昇が抗原の連続吸入による発作^{7,8)}のほか, 純酸素の長時間吸入時や¹¹⁾, β -刺激気管支拡張薬の大量連続投与時¹²⁾にも認められた。なお, O₃, NO_x 吸入などについては目下検討中である。

一方, この現象は, 心筋の細胞膜においても, 虚血や再灌流時¹³⁾, イソプロテレンール大量連続投与時¹⁴⁾, 抗癌薬の大量連続投与時¹⁵⁾などで認めており, アレルギー・免疫機序のほか, ある種の非特異的な刺激によっても起こりうることを証明している。

む す び

1) アトピー型の発作性気道収縮の病態には, histamine 中心の単純な収縮のみならず, 肺・気道の粘膜, 白血球, 好酸球など, リン脂質に富んだ各種の細胞膜から産生された leukotriene などによる強力かつ持続性の収縮が含まれている可能性が大きいこと,

2) β -受容体の部分遮断は, 強い抗原の吸入, 大きな発作の連続などにより起こるが, その結果, β_2 -刺激薬の投与効率が低下して難治化すること,

3) 上述した変化の key は phospholipase A₂活性の上昇にあり, さらに, この上昇度が抗原の種類により異なること, 抗原以外の非特異的な刺激によっても起こりうること, などが推定された。

さらに, 抗原の連続吸入に際しては, 免疫・アレルギー機序による病態のほか, 抗原がもつ非特異的な刺激性にもとづく病態の合併もありうることを示唆した。

以上の成績や示唆は, アトピー型喘息においても, 薬物治療の目標を mast cell-histamine 系由来の各種 chemical mediators 遊離機構のみならず, phospholipase A₂の block. にも及ぼさなければならぬことを示したものとえよう。

一方, 繰り返す大発作などで β -受容体の不完全遮断状態に至った難治喘息患者に対しては, β -受容体を介さない気管支拡張薬の投与をレギュラー・ユースとすべき方向も明らかになったわけ

である。

文 献

- 1) Buckle Dr, Smith H: Introduction. Buckle Dr, Smith H, ed, Development of anti-asthma drugs, Butterworths, England, 1984, p 1.
- 2) Sasaki T, et al: Mechanism of leukotriene-induced contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle. Lung 162: 369, 1984.
- 3) 鈴木隆二郎, 他: 抗原吸入誘発試験, 遅発型喘息の基礎と臨床. 滝島 任 編, 初版, 文光堂, 東京, 1988, p21.
- 4) Satake T: International Seminar (Newer Developments in the Management of Asthma) Cyclic 3',5'-AMP in the Lungs and Bronchi. XII. International Congress on Diseases of the Chest (London), 1974.
- 5) 佐竹辰夫: 気道過敏性の種族差 (cyclic nucleotide との関係), 気管支喘息の病因. 牧野荘平, 宮本昭正 編, 初版, ライフサイエンス, 東京, 1978, p66.
- 6) Taki F, et al: Migration of neutrophils in experimental asthma. Ann Allergy 60: 508, 1988.
- 7) Hayashi K, et al: Mechanism responsible for alterations in numbers of autonomic nerve receptors in experimental asthma. Intern Arch Allergy appl Immunol 86: 170, 1988.
- 8) Taki F, et al: The role of phospholipase in reduced β -adrenergic responsiveness in experimental asthma. Amer Rev Respir Dis 133: 362, 1986.
- 9) 松本修一, 他: アレルゲン吸入感作が β -receptor に及ぼす影響に関する研究. アレルギー 32: 221, 1983.
- 10) 鈴木隆二郎, 他: 喘息と肺の各種 receptor, 気管支喘息とアドレナージック&コリナージック受容体. 宮本昭正 編, デーエムジャパン, 東京, 1983, p1.
- 11) Taniguchi H, et al: The role of leukotriene B₄ in the genesis of oxygen toxicity in the lung. Amer Rev Respir Dis 133: 805, 1986.
- 12) Taki F, et al: Effects of the calcium antagonist, diltiazem, on beta-agonist-induced reduction of beta-adrenergic responsiveness in the guinea pig lung. Lung 166: 177, 1988.
- 13) Sugiyama S, et al: Biochemical basis for reperfusion arrhythmias. J Moll Cell Cardiol 19: 67, 1987.
- 14) Kondo T, et al: Mechanism of isoproterenol induced myocardial damage. Cardiovasc Res 21: 248, 1987.
- 15) Ogawa Y, et al: Role of phospholipase in the genesis of doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats. Cancer Res 47: 1239, 1987.