

氏名	せきおか ともひこ 関岡 智彦
学位の種類	博士(薬学)
学位記番号	薬博乙 第35号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当者
学位授与の年月日	平成30年3月23日
学位論文題目	アレルギー性気道閉塞における CysLT ₂ 受容体の機能的役割に関する研究
論文審査委員	(主査) 前田 定秋 (副査) 尾崎 清和 (副査) 米山 雅紀 (副査) 辻 琢己

論文要旨

氏名：関岡 智彦

論文題目：アレルギー性気道閉塞における CysLT₂ 受容体の機能的役割に関する研究

気管支喘息は、気道の慢性炎症、気管支平滑筋収縮や気道分泌による可逆的な気道狭窄、気道過敏性獲得によって、反復的に引き起こされる変動性を持った咳、喘鳴、呼吸困難等の臨床症状を呈する閉塞性呼吸器疾患である。喘息の病態の基本は慢性気道炎症であるが、患者が特異的抗原に曝露された場合には、肥満細胞や好酸球からヒスタミン、プロスタグランジン、ロイコトリエン等が遊離され、気道平滑筋の収縮が惹起される。従って、喘息を制御するためには、「長期管理薬」による気道炎症の管理と「発作治療薬」による喘息発作への対応が重要である。前者としては、強力な抗炎症作用を示す吸入ステロイドが第一選択薬とされ、吸入ステロイドによるコントロールが不十分な場合に、その程度に応じて長時間作用性 β_2 刺激薬、ロイコトリエン拮抗薬 (CysLT₁ 受容体拮抗薬)、テオフィリン、長時間作用性抗コリン薬等が追加投与される。後者としては、短時間作用性 β_2 刺激薬や経口ステロイド等が投薬される。

システイニルロイコトリエン (CysLTs : LTC₄, LTD₄, LTE₄) は、CysLT₁ 受容体を介した気道平滑筋の収縮、血管透過性亢進、粘液分泌等を引き起こし、プラナルカストやモンテルカスト等の CysLT₁ 受容体拮抗薬の喘息治療における臨床的意義が確立されている。一方、CysLT₁ 受容体拮抗薬を服用している患者の約半数ではその効果は不十分とされており、このような病態においては、もう 1 つの CysLTs 受容体である CysLT₂ 受容体が関与している可能性が考えられる。しかしながら、CysLT₂ 受容体が関与する気管支喘息モデルが存在しないため、これまでは新規合成された CysLT₂ 受容体拮抗薬の *in vivo* における有効性評価や気管支喘息の病態における CysLT₂ 受容体の役割解明は限定的であった。

本研究では、気管支喘息モデルの構築に繁用されてきたモルモットを用いて、CysLT₂ 受容体が関与する気道閉塞モデル及びアナフィラキシーモデルを構築し、選択的 CysLT₂ 受容体拮抗薬である BayCysLT₂RA を用いて本受容体の機能的役割を解析すると共に、新規の CysLT_{1/2} 受容体拮抗薬 ONO-6950 の薬効を評価した。更に、気管支喘息患者を含むヒト気管支標本を用いて、CysLT₁ 及び CysLT₂ 受容体の発現部位を検討し、ONO-6950 及び BayCysLT₂RA の平滑筋収縮に対する作用を検討した。

第 1 章 正常モルモットを用いた LTC₄ 吸入による気道閉塞モデルの構築、及び CysLT₂ 受容体の機能的役割について

ヒトの CysLT₂ 受容体は LTC₄ 及び LTD₄ によって活性化されるのに対して、モルモットの CysLT₂ 受容体は LTC₄ によって活性化されることが明らかとなっている。しかしながら LTC₄ は、生体内では、その代謝酵素である γ グルタミルトランスぺプチダーゼ (γ GTP) によって速やかに代謝されるため、CysLTs によって通常惹起される喘息様反応は CysLT₁ 受容体を介するものである。そこで、モルモットを用いた検討では、CysLT₂ 受容体を介する反応を惹起するため、S-ヘキシルグルタチオン (S-hexyl GSH) によって γ GTP 活性を阻害した。

S-hexyl GSH を処置したモルモットに LTC₄ を吸入させることにより、サルメテロールに部分的抵抗性を示すエアートラッピングとこれに伴う気道閉塞が引き起こされた。モンテルカストはこの気道閉塞を抑制せず、エアートラッピングによる肺の容積増加に対しては若干の抑制傾向を示した。これに対して、BayCysLT₂RA 若しくはモンテルカストとの併用群は、このような気道の反応をいずれも有意かつほぼ完全に抑制した。また、S-hexyl GSH 処置下で LTC₄ を静脈内投与した際に引き起こされる気道の血管透過性亢進は、BayCysLT₂RA 単独群若しくはモンテルカストとの併用群によってほぼ完全に抑制された。

以上、気道における CysLT₂ 受容体の活性化は、CysLT₁ 受容体の活性化と異なり、モンテルカストや気管支拡張薬では抑制し切れない気道平滑筋収縮や気道の血管透過性の亢進を引き起こし、喘息の末梢気道病変を形成している可能性が考えられた。

第2章 感作モルモットを用いた CysLT₂ 受容体の関与するアナフィラキシーモデルの構築、及び ONO-6950 の効果について

気管支喘息の急性モデルとして、卵白アルブミン (OVA) で感作したモルモットに OVA を静脈内投与することによって、致死的な呼吸困難を呈するアナフィラキシー反応を惹起し、既存薬である β₂ 刺激薬、ステロイド若しくは両者併用によって有意かつ強力にこれが抑制されることを確認した。S-hexyl GSH 非処置の本モデルに対してはモンテルカストが有意な抑制を示したが、S-hexyl GSH を処置した場合にはその用量に応じてモンテルカストの効果が減弱し、BayCysLT₂RA の効果が増強された。また、S-hexyl GSH 処置下でのアナフィラキシー反応に対しても既存薬が効果を示すことが確認されたが、このようなアナフィラキシー反応を ONO-6950 (0.03, 0.3 及び 3 mg/kg, p.o.) は用量に応じて有意に抑制した。ロイコトリエン拮抗薬によるステロイドの減量効果を検討した結果では、デキサメタゾン (0.1 若しくは 1 mg/kg) をモンテルカストと併用投与した場合の効果はデキサメタゾン (10 mg/kg) 単独群よりも弱かった。一方、ONO-6950 とデキサメタゾン (10 mg/kg) の併用群では、デキサメタゾン単独群と比べて更に死亡率を低下させ、デキサメタゾン (1 mg/kg) 群との併用においてもデキサメタゾン (10 mg/kg) 単独群とほぼ同等の効果を示した。

以上、S-hexyl GSH を処置した感作モルモットに抗原を曝露することによって、CysLT₁ 受容体だけでなく CysLT₂ 受容体も関与するアナフィラキシーモデルが構築され、既存薬も効果を示す病態モデルであることが確認された。また、CysLT_{1/2} 受容体拮抗薬である ONO-6950 は、このようなアナフィラキシー反応をモンテルカストよりも強く抑制し、ステロイドの減量効果についてもモンテルカストを上回った。

第3章 CysLT₂ 受容体のヒト気管支における発現と気管支収縮への関与について

ヒト気道組織における CysLTs 受容体発現と気道平滑筋収縮について検討した。非喘息患者 5 例の肺組織では、発現の程度に個体間の差はあるものの全例の気道上皮及び気道平滑筋細胞に CysLT₁ 受容体が発現していた。CysLT₂ 受容体については 3 例の気道上皮及び 3 例の気道平滑筋において若干の発現が確認された。2 例の喘息患者においても、非喘息患者と同様に気道上皮及び気道平滑筋細胞上に CysLT₁ 受容体が確認されたが、発現の程度が弱い部位が認められた。CysLT₂ 受容体については、気道上皮及び気道平滑筋細胞の他に気道内へ浸潤した白血球上でも確認された。ロイコトリエン拮抗薬の気道平滑筋収縮に対する作用を検討した結果では、モンテルカスト及び ONO-6950 は LTD₄ による非喘息患者

の気管支平滑筋収縮を抑制したが、BayCysLT₂RA は抑制しなかった。ヒトアトピー血清で受動感作した非喘息患者の気管支標本をダニ抗原で刺激した際の平滑筋収縮に対しては、モンテルカスト群、モンテルカストと BayCysLT₂RA の併用群及び ONO-6950 群が部分的抑制を示したが、BayCysLT₂RA 群は抑制しなかった。これに対して、喘息患者の 1 例では、ダニ抗原による平滑筋収縮を BayCysLT₂RA が単独で抑制し、モンテルカストとの併用群及び ONO-6950 群ではほぼ完全な抑制を示した。

以上、CysLT₁ 受容体は、喘息の有無に関わらず、ヒトの気道上皮や気道平滑筋上に発現していた。CysLT₂ 受容体については、非喘息患者の気道上皮や気道平滑筋上に発現していたが個体差がみられた。喘息患者においても、気道平滑筋、気道上皮細胞及び浸潤白血球における CysLT₂ 受容体の発現が認められたが、気道内の貯溜粘液中の白血球上にも CysLT₂ 受容体の発現がみられた。また、非喘息患者の気管支平滑筋収縮に CysLT₂ 受容体拮抗薬は影響しなかったが、喘息患者の 1 例では、抗原によるアレルギー性の気管支収縮が BayCysLT₂RA や ONO-6950 によって抑制された。

本研究の結果、気管支喘息における CysLT₂ 受容体の機能解析や新規化合物の有効性評価に有用と考えられる新たな気道閉塞モデル及びアナフィラキシーモデルが構築された。CysLT₂ 受容体は、気管支喘息の病態において、気道平滑筋収縮や気道の血管透過性を亢進させることによって、エアートラッピングの原因となる末梢気道閉塞に関与している可能性が考えられた。また、気道収縮が主たる病態であるアナフィラキシー反応に CysLT₂ 受容体に関与する可能性や実際の喘息患者の気管支収縮に CysLT₂ 受容体に関与する結果が示され、経口投与可能な ONO-6950 は、CysLT₁ 受容体だけでなく CysLT₂ 受容体も拮抗することにより、CysLT₁ 受容体拮抗薬を含む既存の喘息治療薬では効果不十分な患者に対しても効果を示す可能性が考えられる。