

氏名（本籍）	高 見 光 孝（千葉県）			
学 位 の 種 類	博士（獣医）			
学 位 記 番 号	獣医博乙第90号			
学位授与年月日	平成21年3月13日			
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当			
学 位 論 文 題 目	ThromboxaneA ₂ 合成酵素阻害薬 DP-1904 の各種喘息モデルにおける薬理学的研究			
審 査 委 員	主査	帯広畜産大学	教 授	石 井 利 明
	副査	帯広畜産大学	教 授	北 村 延 夫
	副査	岩 手 大 学	教 授	古 濱 和 久
	副査	東京農工大学	教 授	下 田 実
	副査	岐 阜 大 学	教 授	海 野 年 弘

論 文 の 内 容 の 要 旨

気管支喘息は気道の収縮、気道粘膜の炎症性浮腫、粘液の過分泌および炎症性細胞浸潤等により特徴づけられ、これら気管支喘息の発症や病態の進展に及ぼすアラキドン酸代謝物が注目されている。なかでもトロンボキサン (TX)A₂ は血小板凝集作用のほか強力な血管および気道平滑筋の収縮作用を示し、アレルギー反応をはじめとする多くの免疫疾患の化学メディエーターとして疾患の発症に重要な役割を果たすことが推察されている。本研究では、新規 TX 合成酵素阻害薬である DP-1904 の免疫薬理学的性質を検討するとともに、気管支喘息、特に気道過敏症を中心としたアレルギー性疾患の発症・進展における TXA₂ の役割を検討している。

モルモットならびにラットを用いて、新規 TX 合成酵素阻害薬である DP-1904 の抗原および平滑筋収縮刺激物(spasmogen)誘発気道収縮反応に及ぼす効果を調べ、その効力を既存の抗喘息薬である OKY-046 と比較した。その結果、DP-1904 は IgG₁ および IgE 関与の実験喘息、LTD₄, arachidonic acid, PAF, および bradykinin による気道収縮を抑制し、その作用は強力、かつ持続性に優れており、DP-1904 の生物学的活性は OKY-046 より優れていることがわかった。そこで、能動感作モルモットの抗原誘発気道収縮反応における TXA₂ の役割と DP-1904 の抑制作用機作について検討している。IgG₁ 関与のモルモットの気道収縮モデルにおいて、抗原誘発後、持続する気道収縮反応の発現に伴い、血漿および気管支肺胞洗浄液(BALF)中の TXB₂ および 11-dehydro TXB₂ はいずれも有意に増加し、さらに気道収縮の程度と遊離された血漿および BALF 中トロンボキサン量との間に有意な正相関を認めた。これに対して、DP-1904 は用量依存的に気道収縮反応を抑制するとともに、血漿および BALF 中のトロンボキサン量を有意に抑制した。また、TXA₂ の生合成は血小板をはじめとする各種細胞に由来し、本モデルにおける DP-1904 の収縮抑制作用は本剤の各種細胞に対する強力な TXA₂ 生合成阻害作用によるものと考えられた。さらに、DP-1904 の収縮抑制機構の詳細を検討するために、能動感作モルモットの肺実質標本を用いた in vitro 抗原誘発収縮反応に対する DP-1904 の作用について検討している。その結果、能動感作モルモット肺実質標本に抗原を添加すると、持続する収縮反応の発現に伴い、ヒスタミン、TXB₂ およびロイコトリエン(p-LT)類の有意な遊離が認められた。DP-1904 は TXB₂ 産生を強力に抑制すると同時に、収縮性プロスタノイドに対する弛緩性プロスタノイド比を改善し、収縮反応の遅発相を有意に抑制した。また、抗ヒスタミン薬および p-LT 拮抗薬による収縮抑制効果は DP-1904 の併用

により、収縮の初期相および遅発相が相乗的に増強された。これらの結果から、本モデルの収縮の初期相にはヒスタミンおよび TXA₂ が、後期相には TXA₂ と p-LT が関与すること、さらに DP-1904 併用による相乗効果から、TXA₂ は本収縮反応の促進因子として作用しているものと考えられた。

気管支喘息の病態は気道過敏性により特徴づけられ、肺組織の好酸球の浸潤と関連する。そこで、好酸球の浸潤とセロトニン (5-HT) 刺激に対する過敏反応が惹起されるセファデックス処置ラット肺標本を用いて、抗原や各種 spasmogen による過敏性反応における TXA₂ の役割について検討している。抗原刺激後の TXB₂ および p-LT の遊離はセファデックス処置群でのみ著明に増加しており、収縮過敏反応と TXB₂ の遊離は DP-1904 とセロトニン (5-HT) 拮抗薬の methysergide で有意に抑制された。さらに、5-HT 刺激による収縮過敏反応は遊離した TXB₂ 量と正相関を示し、U-46619 (thromboxane mimetic) 刺激に対する収縮反応性も著明に亢進していることを明らかにした。また、DP-1904 は、セファデックス処置ラット肺の 5-HT 刺激による TXB₂ の遊離と収縮過敏反応を濃度依存的に抑制したが、好酸球の浸潤を阻止しなかった。これらの結果から、本過敏反応モデルは抗原または 5-HT 刺激に対する newly generated mediator (TXA₂, p-LTs) の産生が亢進状態にあり、抗原刺激により内因性に遊離された 5-HT が secondary に TXA₂ の生成、さらには遊離された TXA₂ にそのものに対する収縮感受性の亢進が複雑に関連して収縮過敏反応が発現するものと考えられた。

最後に、能動感作モルモットに抗原を吸入暴露して誘導した気道過敏症モデルの成因について、本モデルに DP-1904 を適用することにより、TXA₂ を主としたケミカルメディエーターと浸潤した炎症性細胞の観点から解明している。原暴露の 3 時間後に発現する初期相の気道過敏反応は気道組織内で生成された TXA₂ が血管透過性を高め、気道の炎症性浮腫による狭窄、ひいてはこれが呼吸抵抗の増加につながり、気道過敏症の進展に寄与することがわかった。また、抗原暴露の 7 時間後に発現する遅発相の気道過敏反応は、初期相における炎症性浮腫に炎症性細胞の浸潤と活性化が加わり、気道過敏症の成立に関与していることがわかった。さらに、TX 合成酵素阻害薬の DP-1904 は予防的投与により、本モデルの初期および遅発相の気道過敏反応をいずれも抑制したことから、TXA₂ は気道過敏症の進展および成立に重要な役割を果たすことが示唆された。

以上、本研究は、各種喘息モデルにおけるケミカルメディエーターの関与と TX 合成酵素阻害薬 DP-1904 の免疫薬理学的性質を明らかにし、気管支喘息を始めとするアレルギー性疾患の発症・進展における TXA₂ の役割を解明している。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、thromboxane A₂ 合成酵素阻害薬である DP-1904 の免疫薬理学的性質を検討するとともに、気管支喘息、特に気道過敏性を中心としたアレルギー性疾患の発症・進展におけるトロンボキサン (TX) A₂ の役割を検討した。

第一章では能動感作したモルモットとラットを用いて抗原および平滑筋収縮刺激物質 (spasmogen) 誘発気道収縮反応に及ぼす DP-1904 の作用を評価した。その結果、DP-1904 は種々の spasmogen 誘発気道収縮を抑制し、その作用は強力かつ持続性に優れ、生物学的活性は既存の抗喘息薬である OKY-046 よりも優れていることが示された。

第二章では能動感作モルモットの抗原誘発気道収縮反応における TXA₂ の役割と DP-1904 の抑制作用機作について検討した。その結果、TXA₂ は気道過敏のみならず気道収縮反応に関与する重要なメディエーターであり、その生成は血小板をはじめとする各種細胞に由来し、DP-1904 の抗原誘発気道収縮の抑制効果は強力な TX 合成酵素阻害によることを証明した。

第三章では感作モルモット肺実質標本を用いた in vitro 抗原誘発気道収縮反応に及ぼす DP-1904 の影響について評価した。その結果、in vitro 抗原誘発気道収縮の初期にはヒスタミンとロイコトリエン (LT) が、後期には TXA₂ と LT が関与しており、さらに TXA₂ はヒスタミンと LT の収縮を増強することを見つけた。また、DP-1904 の収縮抑制効果は TX 合

成酵素阻害による TXA₂ 産生抑制とそれに伴うプロスタグラン(PG) I₂ および PGE₂ 産生増加に基づく収縮ならびに抑制性プロスタノイドのインバランスの改善が関与することを見つけた。

第四章ではセファデックス処置ラット肺標本の抗原や各種 spasmogen 刺激による過敏性反応における TXA₂ の役割について検討した。その結果、セファデックス投与により誘発される過敏反応の発現には好酸球の浸潤を伴うが、抗原やセロトニン(5-HT)あるいは LTD₄ などの spasmogen 刺激に対して誘導される TXA₂ の産生が亢進すると共に、遊離された TXA₂ そのものに対する収縮感受性も亢進しており、これら両者の亢進が TXA₂ の過敏反応に直接寄与していることがわかった。

第五章では能動感作モルモットの抗原吸入暴露により誘発される気道過敏症と炎症性細胞浸潤における TXA₂ の役割について検討した。その結果、抗原暴露の3時間後に発現する初期相の気道過敏反応は、気道組織内で生成された TXA₂ が血管透過性を高め、気道の炎症性浮腫による狭窄、ひいてはこれが呼吸抵抗の増加につながり、気道過敏症への進展に寄与していることがわかった。また、抗原暴露の7時間後に発現する遅発相の気道過敏反応は、初期相における炎症性浮腫にさらに炎症性細胞の浸潤と活性化が加わり、気道過敏症の成立に関与していることを見つけた。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Possible role of thromboxane A₂ in hyperresponsiveness of isolated rat lung tissue in a sephadex-induced eosinophilia model
著 者 名 : Takami, M., Matsumoto, K., Takata, Y., Furuhashi, K. and Tsukada, W.
学術雑誌名 : International Archives of Allergy and Immunology
巻・号・頁・発行年 : 106 : 401-409, 1995
- 2) 題 目 : Correlative alteration of thromboxane A₂ with antigen-induced bronchoconstriction and the role of platelets as a source of TXA₂ synthesis in guinea pigs: effect of DP-1904, an inhibitor of thromboxane synthetase
著 者 名 : Takami, M. and Tsukada, W.
学術雑誌名 : Pharmacological Research
巻・号・頁・発行年 : 38 (2) : 133-139, 1998
- 3) 題 目 : *In vitro* effect of DP-1904, a novel anti-asthma agent, against antigen-induced constriction and TXB₂ release from the isolated guinea-pig lung parenchymal tissue
著 者 名 : Takami, M. and Tsukada, W.
学術雑誌名 : Pharmacological Research
巻・号・頁・発行年 : 38 (2) : 141-147, 1998
- 4) 題 目 : Effects of DP-1904, a thromboxane synthetase inhibitor, on the antigen-induced airway hyperresponsiveness and infiltration of inflammatory cells in guinea-pigs
著 者 名 : Takami, M. and Tsukada, W.
学術雑誌名 : Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids
巻・号・頁・発行年 : 59 (6) : 407-414, 1998
- 5) 題 目 : Effect of DP-1904, a thromboxane synthetase inhibitor, on antigen- and spasmogen-induced bronchoconstriction in rodents
著 者 名 : Takami, M. and Tsukada, W.
学術雑誌名 : European Journal of Pharmacology
巻・号・頁・発行年 : 366 : 253-259, 1999

既発表学術論文

- 1) 題 目: 新合成抗菌剤 DL-8280 の抗原性に関する検討
著 者 名: 高見光孝, 和賀井信彦, 服部浩之, 荒内龍夫
学術雑誌名: Chemotherapy
巻・号・頁・発行年: 32 (1): 1171-1178, 1984
- 2) 題 目: A novel thromboxane synthetase inhibitor, DP-1904, inhibits human
blood eosinophil degranulation
著 者 名: Devendra, K. A., Takami, M. and Ono, S.
学術雑誌名: Inflammation
巻・号・頁・発行年: 21 (1): 1-8, 1997
- 3) 題 目: A possible involvement of thromboxane A₂ and peptide leukotrienes in
hyperresponsiveness of sephadex-treated rat lung parenchyma
著 者 名: Takami, M. and Tsukada, W.
学術雑誌名: Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids
巻・号・頁・発行年: 60 (1): 65-71, 1999

その他

- 1) 題 目: DD-3848 の抗原性 (第 1 報) —モルモットを用いた検討—
著 者 名: 高見光孝, 山口文恵, 服部浩之, 荒内龍夫
学術雑誌名: 薬理と治療(Japanese Pharmacology & Therapeutics)
巻・号・頁・発行年: 13 (Suppl.5): 221-229, 1985
- 2) 題 目: DD-3848 の抗原性 (第 2 報) —マウスを用いた特異的 IgE 抗体に
関する検討—
著 者 名: 和賀井信彦, 高見光孝, 服部浩之, 荒内龍夫
学術雑誌名: 薬理と治療(Japanese Pharmacology & Therapeutics)
巻・号・頁・発行年: 13 (Suppl.5): 231-235, 1985