

主論文

Effect of a Cysteinyl Leukotriene Receptor Antagonist on Experimental Emphysema and Asthma Combined with Emphysema

(肺気腫と肺気腫合併喘息マウスモデルに対するロイコトリエン受容体拮抗薬の効果)

【緒言】

近年、気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患（COPD）および両疾患を合併する患者が増加している。いずれも慢性炎症に基づいた気流閉塞を主病像とする疾患として類似しているが、気管支喘息の炎症細胞は好酸球、マクロファージ、CD4⁺T リンパ球であるのに対して、COPDでは好中球、マクロファージ、CD8⁺T リンパ球が主体であり両疾患の病態は異なると考えられている。しかし、喘息と COPD では臨床症状が類似し、喘息の増悪時には好中球の気道集積がみられ、COPD の急性増悪でも好酸球が気道局所に浸潤することが知られ、その機序も両疾患で同様のサイトカインや遊走因子が関与していることが推測されている。ロイコトリエンはアラキドン酸の代謝産物で、ロイコトリエン B₄ (LTB₄) とシスティニルロイコトリエン (CysLTs) に大別される。CysLTs は強力な気道収縮作用を有し気管支喘息に深く関与している。一方、COPD 患者でも CysLTs の産生亢進や、CysLT₁ 受容体 (CysLT₁R) の過剰発現を認めるとの報告がある。CysLT₁R 拮抗薬は気管支喘息の病態の改善効果を認めるが、COPD における役割は未だ明らかではない。今回我々は、CysLTs が喘息のみでなく COPD においても重要な増悪因子と考え、CysLT₁R 拮抗薬（モンテルカスト）による炎症効抑制効果を検討するため、臨床的な病態に近似した COPD マウス、喘息および COPD 合併マウスモデルを作成し研究を行った。

【材料と方法】

動物と実験プロトコール

メスの BALB/c マウスを用いた。気管支喘息マウスは卵白アルブミン (OVA) と alum の腹腔内投与により 2 回感作をおこない、2 週間後 3 日間連日 OVA を吸入曝露することにより喘息モデルを作製した。COPD マウスは豚膵エラスターゼ (PPE) を気管内に散布し作製した。OVA 感作後 PPE 気管内散布、さらに OVA 吸入曝露を行うことにより COPD 合併喘息マウスを作製した。モンテルカストを 1 週間連日皮下投与し、最終投与 24 時間後に気道過敏性の測定、気管支肺胞洗浄 (BAL) 液および肺組織における気道炎症の評価、肺泡破壊の評価、CT による気腫性変化を行った。

【結果】

モンテルカストは喘息マウスの気道過敏性、気道炎症を抑制した。

OVA 感作, 曝露喘息マウスにモンテルカストを投与したマウス (OVA/OVA/Montelukast) では, 非投与マウス (OVA/OVA/vehicle) と比較し気道過敏性の亢進を有意に抑制した。BAL 液中の好酸球数, リンパ球数と CD3⁺ と CD4⁺ T 細胞の増加を有意に抑制した。また Th2 サイトカイン, ケモカイン, LTB4, CysLTs レベルの上昇を抑制した。

モンテルカストは COPD マウスの気道過敏性亢進, 静肺コンプライアンス上昇, 気道炎症を軽減した。

PPE 投与後モンテルカストを投与したマウス (PPE/Montelukast) では, 非投与群 (PPE/Vehicle) と比較し気道過敏性の亢進, 静肺コンプライアンスの上昇が有意に抑制された。さらに, COPD マウスモデルでは, BAL 液中のマクロファージ, リンパ球数, 好中球数の増加, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T 細胞数の増加, また KC, MIP-2, パーフォリン, LTB4, CysLTs の増加を認めたがモンテルカストの投与により, これらの増加は有意に抑制された。

モンテルカストは COPD の TNF α の上昇, 肺胞損傷を抑制した。

PPE 投与後モンテルカストを投与したマウス (PPE/Montelukast) では, 非投与群 (PPE/Vehicle) と比較し肺内の TNF α の増加が抑制され, 肺の気腫性変化である平均肺胞間距離 (Lm, D2) の増大を有意に抑制した。

モンテルカストは喘息および COPD 合併喘息マウスの気道過敏性亢進, 静肺コンプライアンス上昇, 気道炎症, 肺損傷を抑制した。

OVA 感作暴露および PPE を投与した COPD 合併喘息マウスでは, 気道過敏性亢進, 静肺コンプライアンスの上昇, BAL 液中のマクロファージ, リンパ球, 好中球, 好酸球の増加, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T 細胞数の増加, Th2 サイトカイン, ケモカイン増加, KC, MIP-2, パーフォリン, LTB4, CysLTs の増加を認めた。モンテルカスト投与により, これらはいずれも有意に抑制された。さらに肺内の TNF α 増加, 平均肺胞間距離 (Lm, D2) の増大も有意に抑制された。

【考察】

COPD は気道と肺胞領域に慢性炎症を生じ, 進行性に肺実質が破壊される慢性閉塞性肺疾患である。COPD の詳細なメカニズムは未だ解明されておらず, さらに近年喘息と COPD の合併症例が増加しているが薬物治療に反応が乏しいことが少なくない。今回の我々の研究では, 喘息と比較して COPD マウスでは静肺コンプライアンス, D2, BAL 液中の好中球数, KC, MIP-2, LTB4, 肺内の TNF α レベルの有意な上昇を認めた。一方 BAL 液中の好酸球数, IL-4, IL-5, IL-13, CysLTs レベルは COPD より喘息マウスで上昇を認めた。喘息および COPD 合併マウスでは, 喘息モデルおよび COPD モデルと比較し, 著明な気道過敏性の亢進および BAL 液中 LTB4, CD4⁺, CD8⁺ T 細胞数の増加を認めた。これまでに小人数の COPD 臨床研究において, モンテ

ルカストが QOL, 努力性肺活量, 1 秒量, PaO₂ を改善させた報告や, モンテルカスト治療中の喀痰サンプルで好中球数が減少したとの報告があるが, COPD 動物モデルにおいて CysLTR 拮抗薬の COPD の病態に及ぼす効果およびメカニズムは全く報告されていない。

病理学上 COPD は肺実質の破壊と気道炎症によって特徴づけられるが, 炎症細胞としてマクロファージ, 好中球, CD8⁺T 細胞数の増加が重要であり, 特に好中球の肺局所への集積には IL-8 (マウスでは MIP-2, KC), LTB₄ が関与している。本研究によりモンテルカストが静肺コンプライアンス, BAL 液のリンパ球数, 好中球数, KC, MIP-2, LTB₄ の上昇を有意に抑制し, 気腫性病変の抑制効果を有すること明らかとなった。さらに, COPD 合併喘息モデルにおいて, モンテルカストは気道過敏性, BAL 液中の好中球数, 好酸球数, CD4⁺, CD8⁺T 細胞数, Th2 サイトカイン, ケモカイン, CysLTs, 肺内の TNF α レベルの上昇を有意に減少させ肺胞破壊を軽減した。

近年我々は, 喘息において LTB₄ が受容体 (BLT1) に結合し CD8⁺T 細胞等の炎症細胞を気道局所へ集積させ, IL-13 産生を増強する作用を有することを報告した。モンテルカストは LTB₄ の産生を抑制する報告や, cAMP を上昇させ好中球性気道炎症を抑制する可能性が報告されているが, 今回の研究において我々は, モンテルカストが各モデルにおいて LTB₄ の産生を有意に抑制することを明らかにした。モンテルカストの好中球性気道炎症の抑制効果として LTB₄ の産生抑制効果が重要と考えられる。

パーフォリンは, アポトーシスを誘導する蛋白質で CD8⁺T 細胞から放出される。COPD 患者の気道においてパーフォリンは健常人と比較し増加し, 肺胞破壊による COPD の肺機能低下と相関するとの報告がある。今回の我々の研究では, COPD モデルおよび COPD 合併喘息モデルにおいて, モンテルカストが CD8⁺T 細胞数を有意に減少させることによりパーフォリンの産生を低下させ, 気腫性病変を抑制した可能性を初めて報告した。モンテルカストの作用機序としてパーフォリンの制御が重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

【結論】

本研究において, モンテルカストが喘息の気道過敏性, 好酸球性気道炎症に対する抑制効果のみでなく, COPD の好中球性気道炎症, 気腫性病変に対する抑制効果を有することを明らかにした。さらに両者が合併する病態においても各気道炎症および肺損傷の抑制効果が明らかとなった。今後モンテルカストは, COPD および COPD 合併喘息の新たな治療戦略になり得る可能性が示唆された。