

Involvement of Cyclooxygenase Products and Neuropeptides in Increased Cough Receptor Sensitivity in Guinea Pigs with Eosinophilic Bronchitis

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8387

モルモットの好酸球性気管支炎モデルにおける咳受容体感受性 亢進とシクロオキシゲナーゼ代謝産物および ニューロペプチドの関与について

金沢大学医学部内科学第三講座 (主任: 松田 保教授)

小 川 晴 彦

(平成4年7月15日受付)

咳嗽は主要な呼吸器症状の一つである。咳嗽は気道のC線維末端の刺激により発生する。赤とうがらしの主成分であるカプサイシンは気道C線維を刺激して咳嗽を誘発する。我々は咳受容体感受性の指標としてカプサイシン誘発咳テストを行った。気道壁への好酸球浸潤は慢性持続性咳嗽の原因となるので、モルモットにポリミキシンBを点鼻することにより、好酸球性気管支炎 (eosinophilic bronchitis) の動物モデルを作製して咳嗽発生のメカニズムを検討した。作製した好酸球性気管支炎では、好酸球浸潤の程度は気管で最も強く、末梢の気管支では軽度であった。また肺泡領域ではほとんど変化は見られなかった。ポリミキシンB点鼻群では、生理食塩水点鼻群より有意に気管支肺泡洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid) 中の好酸球比率と、気管上皮内に浸潤した好酸球数が増加し、気管上皮剥離の程度も強かった。ポリミキシンB点鼻群では、生理食塩水点鼻群より有意に咳受容体感受性が亢進していたが、その咳受容体感受性亢進の程度は、気管上皮剥離の程度およびBALF中の好酸球比率と有意な相関関係を示した。さらに、このモデルの気道過敏性は亢進していなかったため、好酸球性気管支炎のなかでも臨床的には藤村らのアトピー咳嗽に近いモデルであると考えられた。FK-224 はニューロキニン1とニューロキニン2の受容体拮抗剤であるが、このモデルではFK-224の腹腔内投与により咳受容体感受性が有意に低下したので、咳受容体感受性亢進にニューロペプチドが関与していることが示唆された。また、このモデルではインドメサシン (シクロオキシゲナーゼ阻害剤) および、S-1452 (トロンボキサンA₂合成阻害剤) の腹腔内投与により咳受容体感受性が抑制されたので、トロンボキサンA₂は咳嗽に対して促進的に作用していると考えられた。このモデルは咳嗽のメカニズムの究明、好酸球性気管支炎の治療研究にも役立つと思われる。

Key words 咳受容体感受性, 好酸球性気管支炎, トロンボキサン A₂, ニューロペプチド, モルモット

咳嗽は主要な呼吸器症状の一つである。気道の知覚神経には有髄神経である刺激受容体と伸展受容体、無髄神経である気管支C線維と肺C線維が存在し、咳嗽に直接関与しているのは刺激受容体と気管支C線維であるとされている¹⁾。咳嗽は亢進した咳受容体に咳の誘因 (冷気, 刺激性ガス, 運動, アルコールなど) が作用して発生すると考えられる。一方、赤とうがらしの主成分であるカプサイシンは、気道C線維末端を選択的に刺激して咳を誘発することが知られている²⁾。

慢性乾性咳嗽の原因³⁾として、逆流性食道炎, 慢性後鼻漏, 気管支喘息, 咳喘息 (cough variant asthma)⁴⁾, アレルギー性気管支炎⁵⁾, アトピー咳嗽⁶⁻⁸⁾などが知られている。また、アトピー咳嗽の約8割に気道壁への好酸球浸潤が証明される⁹⁾が、気道への好酸球浸潤と咳嗽に関する研究はほとんど行われていない。そこで、気道への好酸球浸潤による咳嗽のメカニズムを解明するために、モルモットを用いて好酸球性気管支炎のモデルを作製し、咳受容体感受性亢進の有無およびその発現機序につ

いての検討を試みた。

対象および方法

I. 実験動物

体重 300~350g の Hartley 雌性モルモット (三共ラボ, 東京) を購入し、金沢大学動物実験施設内の空調飼育室 (室温 23 ± 2℃, 湿度 55 ± 5%) で飼育した。

II. 咳受容体感受性の測定

1. 測定方法

モルモットの頭部を図のようにボックス (東大式モルモットボックス TM-2, シジメメディカル, 東京) に固定した (図1)。呼吸あるいは咳嗽によって得られるボックス内圧の変化を、低圧用差圧トランスジューサー Model TP-602T (日本光電社, 東京) を介して測定し、リネアレコーダー (WR7500, グラフテック株式会社, 東京) で記録した。咳嗽は大きな呼出性の振れ (図2) として記録されるが、肉眼的にモルモットを観察し、体動

Abbreviations: BALF, bronchoalveolar lavage fluid; CVA, cough variant asthma; Eo, Eosinophil; EB, eosinophilic bronchitis; PAF, platelet activating factor; Pao, pressure at the airway opening; PGE₂, I₂, prostaglandinE₂, I₂; TXA₂, thromboxaneA₂

による記録の乱れを咳嗽と鑑別し除外した。

2. 咳嗽の誘発

咳嗽誘発物質としてカプサイシン (Sigma Chemical Company, ST. Louis, U. S. A.) を用いた。カプサイシンは、10%無水エタノール (和光純薬工業株式会社, 大阪), 10%polyoxyethylene sorbitan mono-oleate (Sigma Chemical Company), および生理食塩水に溶解し 10^{-2} M 溶液を作製したのち、さらに生理食塩水で希釈し 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} M 溶液を準備した。生理食塩水をコントロールとし、準備したカプサイシン溶液を低濃度から順に、流量 4l/min のネブライザー MSP-207M (瑞穂医科電機株式会社, 東京) で1分間隔で2分間吸入負荷した。

Transducer

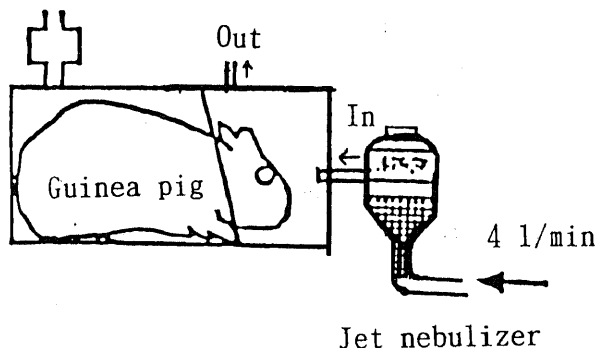


Fig. 1. Design of the experimental system. Each awake guinea pig was placed horizontally and its head was fixed as the figure. To expose the guinea pig to aerosoles, we switched the airflow source to provide airflow from a jet nebulizer, its output was 4l/min. A hole on the box was connected to a transducer and change in the box pressure was recorded on a linear recorder.



Fig. 2. Cough was detected as transient changes in the box pressure: a rapid inspiration followed by rapid expiration. Each cough is indicated by a symbol (·) in the figure.

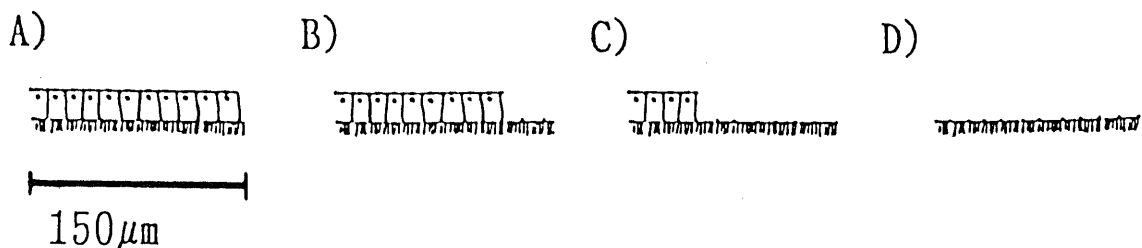


Fig. 3. Scheme of scoring to estimate the injury of tracheal epithelium. Injury score was determined as an average of injury points given to randomly chosen 30 sites of the trachea. A; almost the intact epithelium (injury point 0), B; less than 50% desquamation of the epithelium (injury point 1), C; more than 50% desquamation of the epithelium (injury point 2), D; complete desquamation of the epithelium (injury point 3).

Ⅲ. 好酸球性気管支炎モデルの作製

1. 作製方法

1) ポリミキシンB (ファイザー, 東京より提供) を生理食塩水に溶解し, 5mg/ml のポリミキシンB溶液を作製した。ポリミキシンB溶液 150 μ l/kg をエッペンドルフを用いて, モルモットの右鼻腔内に静かに注入した。2日連続で3週間にわたって, 計6回 (実験1, 2, 8, 9, 15, 16日目) 同様の点鼻処置を行った。

2) 対照として生理食塩水 150 μ l/kg を同様に点鼻した。

2. 好酸球性気管支炎モデルの評価

ポリミキシンB (n=9) あるいは生理食塩水 (n=9) を点鼻したモデルを, 実験22日目 (最終点鼻の6日後) に解剖し, 気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) の細胞分画および, 組織学的に気道上皮あるいは上皮下への炎症細胞浸潤の程度を評価した。

1) BALF による評価

ジエチルエーテル (和光純薬工業株式会社) で麻酔した後, 気管切開をおこなって気管カニューレを挿入した。生理食塩水 10cc を計2回注入し, 低圧持続吸引して得られた液を BALF とした。1,500rpm \times 10min で遠心した BALF 沈渣を BALF 細胞成分とし, RPMI1640 培養液 10ml に再浮遊させた。BALF 細胞数は細胞浮遊液 100 μ l を同量の Turk 液に混ぜて, Burkner-Turk 型計算板を用いて算定した。また細胞浮遊液 100 μ l を Cytospin 2 (Shandon 社, Sewickley, U. S. A.) をもちいて 1,000 \times 10min で遠心し, 遠心スライド標本を作製した。この標本に May-Giemsa 染色を施し, 光学顕微鏡で細胞を300個観察して細胞分画を評価した。

2) 組織学的検討による評価

摘出した気管と肺は10%中性緩衝ホルマリン水で固定した。肺については, 肺門部から末梢の気管支が同一切片上に含まれるように切り出し, その後常法に従い hematoxylin-eosin 染色を行った。病変の分布を評価するために, 気管, 気管支, 肺胞

領域に分け、気管支は更にその内径が 300 μ m 以上のものを大気管支、150~300 μ m のものを中気管支として検討した。大気管支はおおむね肺門部肺外気管支に相当し、中気管支は肺内気管支に相当した。

i. 気道上皮への炎症細胞浸潤の評価

150 μ m あたりの気道上皮内、およびその上皮下に浸潤した炎症細胞の数をカウントした。3カ所で行いその平均値を求めた。

ii. 気管上皮剥離の評価 (剥離指数 injury score)

ランダムに選んだ30箇所で気管上皮を観察した。150 μ m あたり気管上皮の剥離の程度を4群 (A, B, C, D) に分類し得点化した。すなわち、A群は150 μ m あたりの気管上皮がほぼ完全に保たれている場合であり0点、B群は気管上皮剥離が50%以下の場合で1点、C群は気管上皮剥離が50%以上の場合で2点、D群は気管上皮がほぼ完全に剥離している場合で3点として計算し平均値をとった (図3)。

3. 実験1 ポリミキシンB点鼻処置および生理食塩水点鼻処置による咳受容体感受性の変化について

前述 (III. 1.) の3週間にわたるポリミキシンB (n=9) あるいは生理食塩水 (n=9) の点鼻処置が、モルモットの咳受容体感受性にどのような影響を与えるかを検討した。咳測定は実験1日目 (点鼻処置前) と実験22日目 (最終点鼻 (Day16) の6日後) に行った。

4. 実験2 ポリミキシンB点鼻モデルの咳受容体感受性測定の再現性について

薬物の投与実験を行う実験22日目および23日目で咳受容体感受性が安定していることを確認するために、実験22日目と23日目に咳測定を行った (n=7)。生理食塩水点鼻群を対照群とした (n=8)。

5. 実験3 ポリミキシンB点鼻モデルの気道過敏性について

ポリミキシンB点鼻モルモット (n=5) のヒスタミンによる気道過敏性を調べた。ネブタール溶液 75mg/kg の腹腔内投与によってモルモットを麻酔した後、胸骨上縁より1横指頭側で気管切開を行って気管カニューレを装着し、小動物用従量式レスピレーター Model (1680, Harvard 社製, Southnatic, U. S. A) にて陽圧呼吸を行った。1回換気量は 10ml/kg, 換気数は60回/分とした¹⁰⁾。気道収縮の指標として、気管カニューレの側圧 (pressure at the airway opening, Pao) を測定した (Model TP-603T, 日本光電社製)。Pao の変化は、気道収縮を中樞側から末梢側までの変化の総和として反映する指標である¹¹⁾。小動物用定量的吸入負荷装置¹²⁾を用いて50, 100, 200 μ g/ml のヒスタミン溶液を順次5分間隔で20秒間吸入負荷し、ヒスタミン気道収縮の用量反応曲線を測定した。対照群として生理食塩水点鼻モルモット (n=5) を用いた。

6. 実験4 I型アレルギー反応の関与

ポリミキシンB点鼻モルモット (n=4) における抗原抗体反応の関与を調べるために、実験3と同様の処置の後、小動物用定量的吸入負荷装置を用いてポリミキシンB (1mg/ml) を30秒間吸入負荷し、前、1, 3, 5, 7, 10分における Pao の経時的変化を測定した。対照群として生理食塩水点鼻モルモット (n=4) を用いた。

IV. 好酸球性気管支炎モデルの咳受容体感受性亢進の機序

1. 実験5 ポリミキシンB点鼻モデルの咳受容体感受性に

おけるニューロペプチドの関与について

ニューロペプチドの受容体拮抗剤である FK-224 (藤沢薬品工業, 東京) を生理食塩水に溶解し 1, 10, 30mg/ml 溶液を作製、準備した。実験22日目 (最終点鼻 (実験16日目) の6日後) に1回目のカプサイシン誘発咳測定を行った。翌日 (実験23日目) に、1mg/ml/kg (n=6), 10mg/ml/kg (n=6), 30mg/ml/kg (n=6) の FK-224 溶液または生理食塩水 1ml/kg (n=13) を腹腔内投与しその2時間後に2回目のカプサイシン誘発咳測定を行い、1回目の誘発咳回数と比較した。

2. 実験6 ポリミキシンB点鼻モデルの咳受容体感受性におけるシクロオキシゲナーゼ代謝産物の関与について

1) インドメサシン (シクロオキシゲナーゼ阻害剤)

インドメサイシン (Sigma Chemical Company) を0.2%炭酸ナトリウムに溶解し、さらにこれを生理食塩水で希釈し 30mg/ml, 10mg/ml 溶液を作製、準備した。

2) OKY-046 (thromboxaneA₂ 合成阻害剤)

OKY-046 (キッセイ薬品, 松本) を生理食塩水に溶解し 30mg/ml, 1mg/ml 溶液を作製、準備した。

3) S-1452 (thromboxaneA₂ 受容体拮抗剤)

S-1452 (シオノギ製薬, 大阪) を生理食塩水に溶かし 0.1mg/ml, 0.01mg/ml 溶液を作製、準備した。

実験22日目 (最終点鼻 (実験16日目) の6日後) に1回目のカプサイシン誘発咳測定を行い、引き続き先に準備した各溶液 (インドメサシン; 30mg/ml/kg (n=8), 10mg/ml/kg (n=9), OKY-046; 30mg/ml/kg (n=8), 10mg/ml/kg (n=8), S-1452; 0.1mg/ml/kg (n=6), 0.01mg/ml/kg (n=6)) を腹腔内投与した。翌日 (実験23日目) に再び各溶液を腹腔内投与し、その1時間後に2回目のカプサイシン誘発咳測定を行い、1回目の誘発咳回数と比較した。

V. 評価

誘発咳回数の処置前後の比較 (群内比較) は paired-t テストを用いた。各群間比較は Mann-Whitney のUテストを用いた。全て両側検定で、危険率0.05以下を有意と判定した。

成 績

I. ポリミキシンB点鼻処置による好酸球性気管支炎モデルの作製

1. 気管支肺胞洗浄 (BALF) による評価

BALF 中総細胞数は対照 (生理食塩水点鼻) 群およびポリミキシンB点鼻群でそれぞれ 1.68 \pm 0.39及び2.07 \pm 0.42 ($\times 10^4$ cells/ml) で両群間に有意な差はなかった。細胞分画で好酸球、リンパ球、好中球 (%) は対照群ではそれぞれ 10.1 \pm 2.5, 1.7 \pm 0.4および2.8 \pm 1.4%であり、ポリミキシンB点鼻群ではそれぞれ 36.2 \pm 5.9, 1.8 \pm 0.8および4.1 \pm 1.9%であり、ポリミキシンB点鼻群で好酸球 (%) は有意に (p<0.001) 増加していたが、リンパ球、好中球 (%) には有意差は認めなかった (表1)。

2. 組織学的検討による評価

1) 気道上皮への炎症細胞浸潤の評価

実験22日目における生理食塩水点鼻モルモットとポリミキシンB点鼻モルモットの代表的な組織標本 (気管) を示す (図4, 5)。図5のように単核球、多核球はほとんど見られないため、最も数が多かった好酸球の組織浸潤を前述の基準に従って評価した。

気管上皮内, 気管上皮下, 大気管支上皮内, 大気管支上皮下, 中気管支上皮内および中気管支上皮下に浸潤した好酸球数は, 対照群で 3.8 ± 1.3 , 5.3 ± 1.0 , 0.6 ± 0.4 , 1.5 ± 0.5 , 0.3 ± 0.2 および 0.9 ± 0.7 個, ポリミキシンB群では 19.2 ± 3.6 , 9.1 ± 2.0 , 2.2 ± 1.0 , 2.2 ± 0.6 , 2.1 ± 0.8 および 1.7 ± 0.9 個であり, ポリミキシンB点鼻群では気管上皮内および中気管支上皮内に浸潤した好酸球数は有意に(それぞれ $p < 0.001$, $p < 0.05$)多かった。しかし, 気管上皮下, 大気管支上皮内, 大気管支上皮下および中気管支上皮下に浸潤した好酸球数には有意差はなかった(表1)。尚, 肺胞領域ではいずれの群でも肺胞壁への炎症細胞浸潤は極めて軽く, 胞隔の浮腫性肥厚も認められな

め評価の対象から除外した。

2) 気管上皮剥離 (剥離指数 injury score) の評価

気管の気道上皮剥離指数は対照群で 3.6 ± 0.6 , ポリミキシンB点鼻群で 13.6 ± 0.9 であり, ポリミキシンB点鼻群で有意に($p < 0.001$)大きかった。

3. ポリミキシンB点鼻処置および生理食塩水点鼻処置が咳受容体感受性に及ぼす影響について (実験1)

対照 (生理食塩水点鼻) 群の生理食塩水, 10^{-18} , 10^{-16} および 10^{-14} M のカプサイシン溶液による誘発咳回数は, 点鼻処置開始前はそれぞれ 0.00 ± 0.00 , 0.67 ± 0.24 , 1.11 ± 0.20 および 1.44 ± 0.18 回, 点鼻処置後 (実験22日目) はそれぞれ 0.56 ± 0.18 ,

Table 1. Bronchoalveolar lavage (BAL) and histologic findings in guinea pigs transnasally treated with polymyxin B or saline (mean \pm SEM)

	Polymyxin B (n=9)	Saline (n=9)	Difference*
BAL			
Total Cells (10^4 cells/ml)	2.07 ± 0.42	1.68 ± 0.39	NS**
Eosinophils (%)	36.2 ± 5.9	10.1 ± 2.5	$p < 0.001$
Lymphocytes (%)	1.8 ± 0.7	1.7 ± 0.4	NS
Neutrophils (%)	4.1 ± 1.9	2.8 ± 1.4	NS
Tissue Eosinophil Infiltration			
Trachea			
Epithelium (cells)	19.2 ± 3.6	3.8 ± 1.3	$p < 0.001$
Subepithelium (cells)	8.1 ± 2.0	5.3 ± 1.0	NS
Large Bronchus			
Epithelium (cells)	2.2 ± 1.0	0.6 ± 0.4	NS
Subepithelium (cells)	2.2 ± 0.6	1.5 ± 0.5	NS
Medium Bronchus			
Epithelium (cells)	2.1 ± 0.8	0.3 ± 0.2	$p < 0.05$
Subepithelium (cells)	1.7 ± 0.9	0.9 ± 0.7	NS
Injury Score of Tracheal Epithelium	13.6 ± 0.9	3.6 ± 0.6	$p < 0.001$

There was a significant increase in lung eosinophils in animals treated with polymyxin B, $p < 0.001$ vs control group by Mann-Whitney's U-test. Histologically, there were significant increases in number of eosinophils infiltrating into the epithelium of trachea and into the epithelium of medium bronchus in animals treated with polymyxin B ($p < 0.001$, $p < 0.05$). There was also a significant increase in the injury score of tracheal epithelium ($p < 0.001$) in the polymyxin B-treated animals.

* Difference is analyzed by Mann-Whitney's U-test. **NS means not significant.



Fig. 4. The microscopic view of the trachea in a guinea pig treated with saline ($\times 400$).

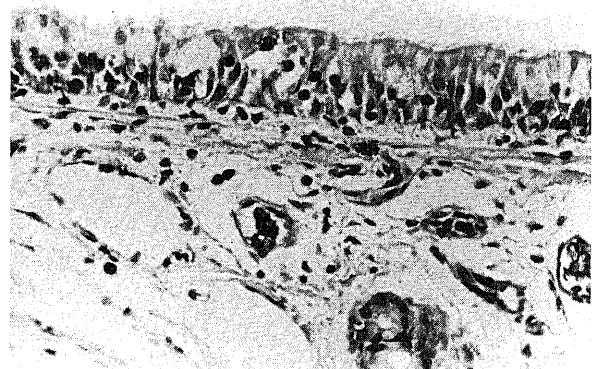


Fig. 5. The microscopic view of the trachea in a guinea pig treated with polymyxin B showing marked eosinophilic infiltration into the epithelium or subepithelium of trachea ($\times 400$).

1.33±0.17, 1.33±0.24および1.67±0.17回であり, 点鼻処置後に生理食塩水および10⁻¹⁶Mのカプサイジン溶液による誘発咳回数は有意に(それぞれp<0.05, p<0.01)に増加した。しかし, 10⁻¹⁶および10⁻¹⁴Mのカプサイジン溶液による誘発咳回数には有意な変化は見られなかった。

ポリミキシンB点鼻群の生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶および10⁻¹⁴Mのカプサイジン溶液による誘発咳回数は, 点鼻処置開始前はそれぞれ0.00±0.00, 0.56±0.24, 1.11±0.11および1.44±0.18回, 点鼻処置後(実験22日目)はそれぞれ1.22±0.15, 2.00±0.17, 2.44±0.24および2.67±0.24回であり, 点鼻処置後の咳回数は生理食塩水およびすべての濃度のカプサイジン溶液で有意に(すべてp<0.01)増加した。

点鼻処置後(実験22日目)の処置前に対する生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶および10⁻¹⁴Mのカプサイジン溶液誘発咳回数の増加数は, 対照群ではそれぞれ0.56±0.53, 0.67±0.50, 0.22±0.98および0.22±0.67回, ポリミキシンB点鼻群では, それぞ

れ1.22±0.44, 1.44±1.01, 1.33±0.87および1.22±0.67回であり, ポリミキシンB点鼻群の増加数は対照群に比しそれぞれ有意に(p<0.05, p<0.05, p<0.05およびp<0.01)に大きかった(図6)。

4. 好酸球性気管支炎モデルにおける組織学的変化の重症度と, 咳受容体感受性亢進の程度との関係

生理食塩水点鼻群とポリミキシンB点鼻群の組織学的検討において, 統計学的に有意差があったBALFの好酸球数(%)および気管上皮剝離指数は, カプサイジン溶液10⁻¹⁴Mで誘発された咳嗽回数と, それぞれ相関係数(r)0.692, (p<0.002)および0.745(p=0.0004)で有意の相関を認めた。気管上皮内に浸潤した好酸球数とカプサイジン溶液10⁻¹⁴Mで誘発された咳嗽回数との間には, 相関の傾向(r=0.44, p<0.1)がみられた。

一方, 両群の組織間に統計学的な差が認められなかった気管の上皮下に浸潤した好酸球数と, カプサイジン溶液10⁻¹⁴Mで誘発された咳嗽回数とは, 全く相関関係は見られなかった。

5. 好酸球性気管支炎モデルの咳受容体感受性の再現性について(実験2)

実験22日目における, 生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶および10⁻¹⁴Mのカプサイジン溶液による誘発咳回数は, 対照(生理食塩水点鼻)群ではそれぞれ0.25±0.16, 1.50±0.19, 1.25±0.16および1.88±0.13回, ポリミキシンB点鼻群では2.29±0.18, 2.71±0.18, 1.14±0.14および2.29±0.18回であり, ポリミキシンB点鼻モデルの咳回数は, 対照群に比し生理食塩水およびカプサイジン溶液の各濃度でそれぞれ有意に(p<0.01, p<0.01, p<0.01, p<0.05)増加していた。

また, 実験23日目における生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶および10⁻¹⁴Mのカプサイジン溶液による誘発咳回数は, 対照(生理食塩水点鼻)群ではそれぞれ1.13±0.13, 1.88±0.13, 0.38±0.18および1.25±0.16回, ポリミキシンB点鼻群では1.00±0.00, 2.29±0.18, 2.29±0.18および2.71±0.29回であり, ポリミキシンB点鼻モデルの咳回数は, 対照群に比し生理食塩水およびカプサイジン溶液の各濃度でそれぞれ有意に(p<0.01, p<0.01, p<0.01, p<0.05)増加していた。

さらに, 実験22日目から23日目にかけて咳回数に有意な変化が見られず, 好酸球性気管支炎モデルの咳受容体感受性の再現

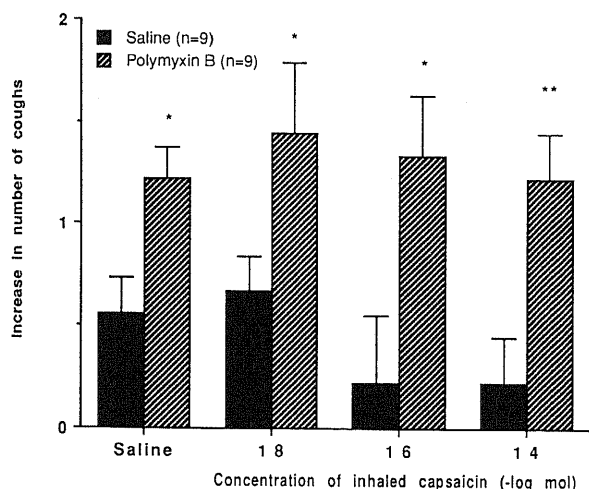


Fig. 6. Increase in capsaicin-induced coughs by transnasal administration of polymyxin B or saline. Each bar represents mean±SE of 9 animals in each group. *p<0.05, **p<0.01, vs number of coughs before each administration.

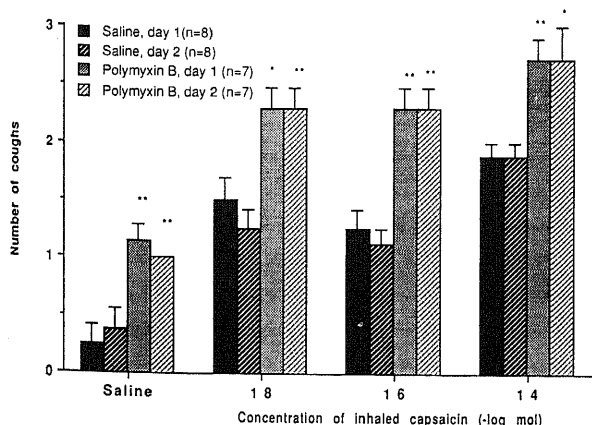


Fig. 7. Reproducibility of measurement of cough number induced by inhaled capsaicin in guinea pigs treated with polymyxin B or saline. Each bar represents mean±SE of 8 animals treated with transnasal administration of saline and of 7 animals treated with polymyxin B.

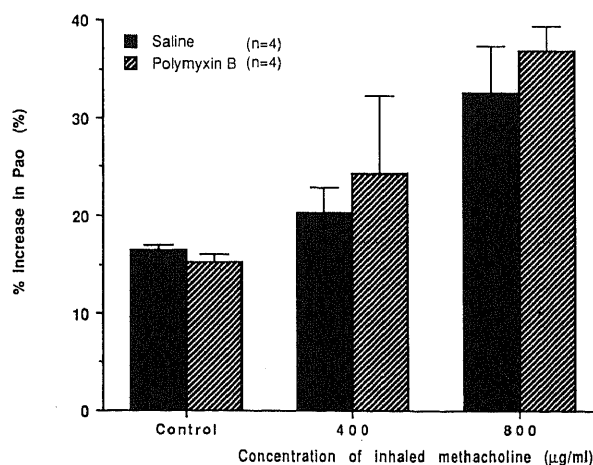


Fig. 8. Airway responsiveness to inhaled histamine in guinea pigs treated with saline or polymyxin B. Each bar represents mean±SE of 4 animals.

性は、概ね良好であると考えられた(図7)。

6. 好酸球性気管支炎モデルの気道過敏性について(実験3)

50, 100, 200 μ g/ml のヒスタミン吸入による Pao の増加率は、対照(生理食塩水点鼻)群ではそれぞれ16.3 \pm 2.4, 52.5 \pm 12.2および125.9 \pm 32.3%, ポリミキシンB点鼻群では16.8 \pm 2.4, 54.9 \pm 6.6および159.9 \pm 32.3%であり、ポリミキシンB点鼻モデルの気道過敏性は、吸入ヒスタミンの各濃度において対照群と差がなかった(図8)。

7. 好酸球性気管支炎モデルにおけるI型アレルギーの関与について(実験4)

ポリミキシンB吸入の前, 1, 3, 5, 7および10分後の Paoは、対照(生理食塩水点鼻)群では順に10.2 \pm 0.3, 10.4 \pm 0.3, 10.4 \pm 0.3, 10.4 \pm 0.4, 10.5 \pm 0.4および10.6 \pm 0.4 cmH₂Oであり、ポリミキシンB点鼻群では10.6 \pm 0.3, 10.8 \pm 0.4, 10.8 \pm 0.4, 10.9 \pm 0.4, 11.0 \pm 0.4および11.3 \pm 0.5 cmH₂Oであり、ポリミキシンB点鼻モデルの Pao の経時的変化は対照群と差がなかった(図9)。

II. 好酸球性気管支炎モデルの咳受容体感受性亢進の機序

1. ポリミキシンB点鼻モデルの咳受容体感受性亢進におけるニューロペプチドの関与について(実験5)

実験22日目(処置前)における、生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶および10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液による誘発咳回数は、対照(生理食塩水腹腔内投与)群ではそれぞれ1.31 \pm 0.18, 2.15 \pm 0.25, 2.46 \pm 0.14および3.00 \pm 0.16回, FK-224 (1mg/kg) 投与群では1.50 \pm 0.22, 1.67 \pm 0.21, 2.00 \pm 0.26および2.67 \pm 0.21回, FK-224 (10mg/kg) 投与群では1.17 \pm 0.48, 2.00 \pm 0.26, 2.00 \pm 0.37および3.17 \pm 0.17回, FK-224 (30mg/kg) 投与群では1.67 \pm 0.21, 2.33 \pm 0.21, 2.67 \pm 0.33および2.83 \pm 0.31回, FK-224 (30mg/kg, 10mg/kg および1mg/kg) 投与前の各群および対照群のカプサイシン溶液による誘発咳回数には全く差を認めなかった。実験23日目(処置後)における生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶および10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液による誘発咳回数は、対照(生理食塩水腹腔内投与)群ではそれぞれ1.15 \pm 0.15, 2.23 \pm 0.17, 2.46 \pm 2.77および2.77 \pm 0.20回, FK-224 (1mg/kg) 投与群では0.67 \pm 0.21, 1.33 \pm 0.21, 1.83 \pm 0.17および

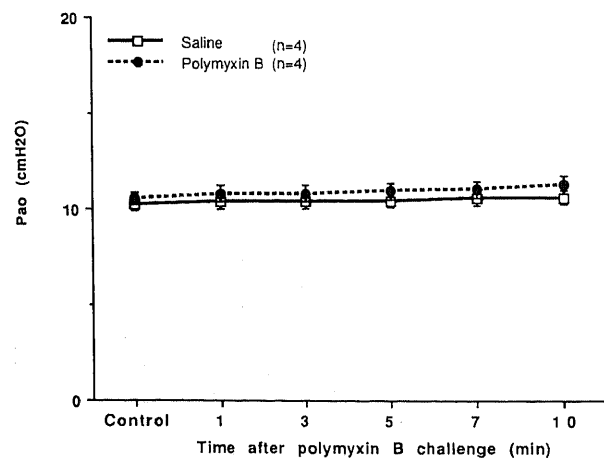


Fig. 9. Time course of Pao after inhalation of polymyxin B in anesthetized guinea pigs treated with saline or polymyxin B. Each point represents mean \pm SE. Pao=pressure at the airway opening.

2.50 \pm 0.22回, FK-224 (10mg/kg) 投与群では0.17 \pm 0.17, 1.33 \pm 0.21, 1.67 \pm 0.21および1.68 \pm 0.21回, FK-224 (30mg/kg) 投与群では0.17 \pm 0.17, 1.33 \pm 0.21, 1.17 \pm 0.17および1.17 \pm 0.17回であり, FK-224 (1mg/kg) 投与群のカプサイシン溶液誘発咳回数は、対照群に比して 10⁻¹⁸および10⁻¹⁶M のカプサイシン溶液で有意に(それぞれ p<0.01, p<0.05)減少し, FK-224 (10mg/kg) 投与群では生理食塩水およびすべての濃度のカプサイシン溶液で有意に(p<0.01, p<0.01, p<0.05, p<0.01)減少し, FK-224 (30mg/kg) 投与群でも、生理食塩水およびすべての濃度のカプサイシン溶液で有意に(すべて p<0.01)減少した。

FK-224 あるいは生理食塩水の腹腔内投与処置後(実験23日目)の処置前(実験22日目)に対する生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶および10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液誘発咳回数の減少数は、対照群ではそれぞれ0.15 \pm 0.19, -0.08 \pm 0.24, 0.00 \pm 0.23および0.23 \pm 0.20回, FK-224 (1mg/kg) 投与群では0.83 \pm 0.40, 0.33 \pm 0.33, 0.17 \pm 0.31および0.17 \pm 0.31回, FK-224 (10mg/kg) 投与群では, 1.00 \pm 0.52, 0.67 \pm 0.42, 0.33 \pm 0.33および1.50 \pm 0.22回, FK-224 (30mg/kg) 投与群では, 1.83 \pm 0.31, 1.00 \pm 0.26, 1.50 \pm 0.43および1.67 \pm 0.33回であり, カプサイシン溶液誘発咳回数の減少数は、投与したFK-224 の用量依存性に大きくなり, 対照群に比し FK-224 (10mg/kg) 投与群では10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液で有意に(p<0.01)に大きく, FK-224 (30mg/kg) 投与群では、生理食塩水およびすべての濃度のカプサイシン溶液で有意に(p<0.01, p<0.05, p<0.01およびp<0.01)大きかった(図10)。

2. ポリミキシンB点鼻モデルの咳受容体感受性におけるシクロオキシゲナーゼ代謝産物の関与について(実験6)

1) インドメサシン(シクロオキシゲナーゼ阻害剤)

実験22日目(処置前)における、生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶および10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液による誘発咳回数は、インドメサシン(10mg/kg)投与群はそれぞれ1.11 \pm 0.11, 2.11 \pm 0.20, 1.89 \pm 0.20および2.22 \pm 0.15回, インドメサシン(30mg/kg)投与群はそれぞれ1.50 \pm 0.19, 1.88 \pm 0.13, 1.88 \pm 0.23および1.88 \pm 0.13回であったが、処置後(実験23日目)において生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶および10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液による誘発咳回数は、インドメサシン(10mg/kg)投与群はそれぞれ0.67 \pm

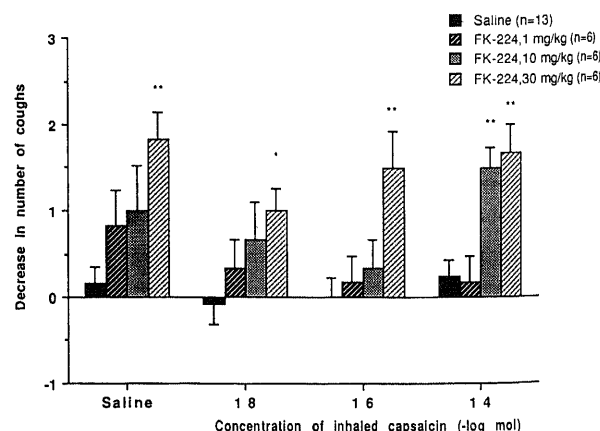


Fig. 10. Decrease in number of coughs induced by capsaisin after intraperitoneal administration of FK-224 or saline. Each bar represents mean \pm SE. *p<0.05, **p<0.01

0.17, 1.44±0.18, 1.67±0.33および1.89±0.20回, インドメサシン (30mg/kg) 投与群はそれぞれ0.50±0.19, 1.25±0.25, 1.25±0.25および0.88±0.13回であり, 処置後の咳回数はインドメサシン (10mg/kg)投与群で生理食塩水および 10⁻¹⁸M のカプサイシン溶液で有意に (p<0.05) に減少し, インドメサシン (30mg/kg) 投与群で生理食塩水および全ての濃度のカプサイシン溶液で有意に (p<0.01, p<0.05, p<0.05 および p<0.01) に減少した。

インドメサシン処置後の処置前に対する生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶ および 10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液誘発咳回数の減少数は, インドメサシン (10mg/kg) 投与群はそれぞれ0.44±0.24, 0.67±0.24, 0.22±0.43および0.33±0.33回, インドメサシン (30mg/kg) 投与群はそれぞれ1.00±0.27, 0.63±0.26, 0.63±0.26および1.00±0.19回であり, カプサイシン溶液誘発咳回数

の減少数は投与したインドメサシンの用量依存性に大きかった (図11)。

2) OKY-046 (TXA₂ 合成阻害剤)

実験22日目 (処置前) における, 生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶ および 10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液による誘発咳回数は, OKY-046 (10mg/kg) 投与群はそれぞれ1.38±0.18, 1.50±0.19, 2.25±0.16および2.12±0.13回, OKY-046 (30mg/kg) 投与群はそれぞれ1.50±0.27, 1.75±0.16, 2.00±0.19および2.13±0.13回であったが, 処置後 (実験23日目) において生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶ および 10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液による誘発咳回数は, OKY-046 (10mg/kg) 投与群はそれぞれ1.13±0.30, 1.63±0.26, 1.88±0.40および2.13±0.44回, OKY-046 (30mg/kg) 投与群はそれぞれ1.25±0.31, 1.88±0.40, 1.38±0.26および2.13±0.23回であり, 処置後の咳回数は OKY-046 (10mg/kg) 投与群でも OKY-046 (30mg/kg) 投与群でも有意な変化は見られなかった。

OKY-046 処置後の処置前に対する生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶ および 10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液誘発咳回数の減少数は, OKY-046 (10mg/kg) 投与群はそれぞれ0.25±0.37, -0.13±0.35, 0.38±0.26および0.00±0.46回, OKY-046 (30mg/kg) 投与群はそれぞれ0.25±0.41, -0.13±0.30, 0.63±0.38および0.00±0.19回であり, カプサイシン溶液誘発咳回数の減少数は, OKY-046 (10mg/kg) 投与群でも OKY-046 (30mg/kg) でも有意な変化は見られなかった (図12)。

3) S-1452 (TXA₂ 受容体拮抗剤)

実験22日目 (処置前) における, 生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶ および 10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液による誘発咳回数は, S-1452 (0.01mg/kg) 投与群はそれぞれ1.83±0.17, 2.33±0.49, 2.17±0.17および2.17±0.17回, S-1452 (0.1mg/kg) 投与群はそれぞれ1.50±0.34, 2.17±0.40, 2.83±0.40および2.17±0.17回であったが, 処置後 (実験23日目) において生理食塩水, 10⁻¹⁸, 10⁻¹⁶ および 10⁻¹⁴M のカプサイシン溶液による誘発咳回数は, S-1452 (0.01mg/kg) 投与群はそれぞれ0.67±0.33, 1.67±0.33, 1.67±0.21および1.67±0.21回, S-1452 (0.1mg/kg) 投

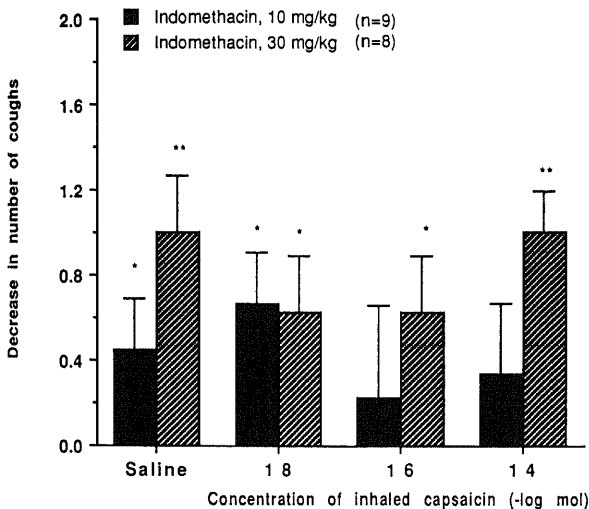


Fig. 11. Decrease in number of coughs after intraperitoneal administration of indomethacin in guinea pigs intranasally treated with polymyxin B. Each bar represents mean±SE. *p<0.05, **p<0.01

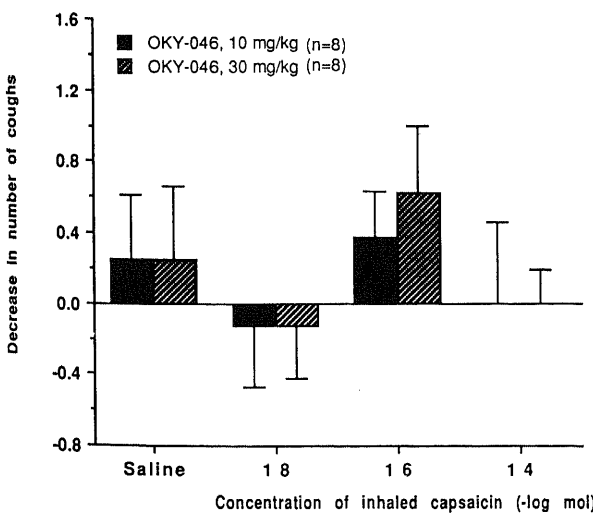


Fig. 12. Decrease in number of coughs after intraperitoneal administration of OKY-046 in guinea pigs treated with polymyxin B. Each bar represents mean±SE. *p<0.05, **p<0.01

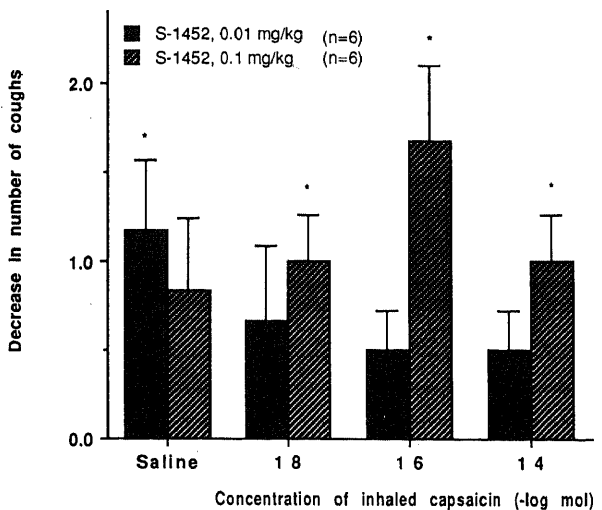


Fig. 13. Decrease in number of coughs after intraperitoneal administration of S-1452 in guinea pigs treated with polymyxin B. Each bar represents mean±SE. *p<0.05, **p<0.01

与群はそれぞれ 0.67 ± 0.33 , 1.17 ± 0.17 , 1.17 ± 0.17 および 1.17 ± 0.17 回であり, 処置後の咳回数 は S-1452 (0.01mg/kg) 投与群で生理食塩水で有意に ($p < 0.05$) に減少し, S-1452 (0.1 mg/kg) 投与群ですべての濃度のカプサイシン溶液で有意に ($p < 0.05$) に減少した。

S-1452 処置後の処置前に対する生理食塩水, 10^{-18} , 10^{-16} および 10^{-14} M のカプサイシン溶液誘発咳回数の減少数は, S-1452 (0.01mg/kg) 投与群はそれぞれ, 1.17 ± 0.40 , 0.67 ± 0.42 , 0.50 ± 0.22 および 0.50 ± 0.22 回, S-1452 (0.1mg/kg) 投与群はそれぞれ 0.83 ± 0.40 , 1.00 ± 0.26 , 1.67 ± 0.42 および 1.00 ± 0.26 回であり, カプサイシン溶液誘発咳回数の減少数は, 投与した S-1452 の用量依存性に大きくなった (図13)。

考 察

咳嗽は主要な呼吸器症状の一つである。咳嗽は感受性の亢進した咳受容体に咳の誘因(冷気, 刺激性ガス, 運動, アルコールなど)が作用して発生すると考えられる。

一般臨床の場合において, 慢性乾性咳嗽の原因⁹⁾として, 気管支喘息, 咳喘息⁴⁾, アレルギー性気管支炎⁵⁾, アトピー咳嗽^{6)~8)}などが知られている。アトピー咳嗽 (atopic cough) は, アトピー素因に関連する持続性乾性咳嗽であり Fujimura らによって報告されたが, その臨床像は, 喘鳴発作や呼吸困難を全く認めず呼吸機能は正常で, 気道過敏性の亢進は認めず, 治療面では β_2 刺激剤吸入やテオフィリン内服などの気管支拡張剤は効果がなく, 抗ヒスタミン作用を有する抗アレルギー剤やステロイド剤が有効であるとしている。Nishi ら⁹⁾は経気管支的気管支生検により, アトピー咳嗽の約 8 割に好酸球性気管支炎がみられたと報告した。さらに, 好酸球性肺炎の部分像¹²⁾¹³⁾としても, また一過性咳嗽の原因としても¹⁴⁾好酸球性気管支炎を経験するようになったが, 気道への好酸球浸潤と咳嗽に関する研究はほとんど行われていない。気道の知覚神経には有髄神経である刺激受容体と伸張受容体, 無髄神経である気管支C線維と肺C線維が存在し, 咳嗽に直接関与しているのは刺激受容体と気管支C線維であるとされている¹⁾。一方, 赤とうがらしの主成分であるカプサイシンは, 気道C線維末端を選択的に刺激して咳を誘発することが知られている³⁾。そこで, 気道への好酸球浸潤による咳嗽のメカニズムを解明するために, モルモットで好酸球性気管支炎 (eosinophilic bronchitis, EB) のモデルを作製し, カプサイシン吸入による咳受容体感受性亢進についての検討を試みた。

好酸球性肺炎のモデルは, これまでもいくつか報告されてきたが^{15)~17)}, マウスにブタ回虫を点鼻した野上らのモデルは他のモデルよりも強い胸膈炎を特徴としていた。そこで, モルモットにブタ回虫 (金沢大学寄生虫学教室, 近藤, 赤尾らによる) の点鼻処置を行ってみたが, 完成したモデルは好酸球性肺炎ではなく好中球性気管支炎であった。この予備実験の結果, マウスよりも体格が大きいモルモットでは点鼻処置による反応が胸膈にまで達し得ず, 中枢側で気管支炎をおこしている可能性が示唆された。また, 一般に好酸球遊走性物質として知られるブタ回虫は, モルモットに対しては好中球遊走性に作用¹⁸⁾した。

以上より, 本実験では肥満細胞脱顆粒性物質¹⁹⁾²⁰⁾として知られるポリミキシンBを点鼻することにより EB モデルの作製を試みた。組織学的に好酸球浸潤の程度は, 気管で最も強く, 末

梢の気管支になるほど軽度であった。また, 肺野領域ではほとんど変化は見られなかったため, 完成したモデルは好酸球性気管支炎のモデルであった。ポリミキシンB点鼻群では, 生理食塩水点鼻群より有意に BALF の eosinophil (Eo, %) , 気管上皮内に浸潤した好酸球数が増加し, 気管上皮剥離の程度も強かった。またポリミキシンB点鼻群では, 生理食塩水点鼻群より有意に咳受容体感受性が亢進していたが, その咳受容体感受性亢進の程度は, 気道上皮剥離の程度および, BAL 中の Eo (%) と有意な相関関係を示していた。すなわちポリミキシンB点鼻モルモットでは, 気管上皮内に浸潤した好酸球により直接的に, あるいは気管上皮剥離により間接的に咳受容体感受性が亢進していることが示唆された。

この EB モデルはポリミキシンB吸入による I 型アレルギー反応を起こさないため, 肥満細胞の脱顆粒による platelet activating factor, leukotrienB₄ を介した EB モデルであると考えられたが, 生理食塩水点鼻群と比してヒスタミン気道過敏性に差がなかったため, 好酸球性気管支炎のなかでも臨床的には藤村らのアトピー咳嗽に近いモデルであると考えられた。

ブラディキニンやヒスタミンなどの内因性刺激, タバコの煙やアレルギーなどの外因性刺激は直接的に, あるいは間接的に肥満細胞からヒスタミンを遊離させ, これが気道の知覚神経終末を活性化する²¹⁾。局所に発生した活動電位は順行性にC線維を介して中枢に伝わるとともに同じニューロン内の神経線維側枝に伝わり (軸索反射)²²⁾, その終末からサブスタンスP, ニューロキニンAおよびニューロキニンBなどのニューロペプチドを遊離させる。遊離したニューロペプチドにより気管支平滑筋の収縮, 血管透過性の亢進, イオントランスポートの促進, アセチルコリンの遊離促進, 咳嗽誘発²³⁾などが引き起こされる。このように知覚神経系の介在した炎症反応は神経原性炎症と呼ばれ, ラットやモルモットの気道で確認されている²⁴⁾がヒトにおいても気管支喘息の病態や気道刺激に対する反応に少なからず関与していると考えられるようになってきた²⁵⁾。したがって, ニューロペプチド受容体拮抗剤は神経原性炎症に抑制的に作用することが期待される。ニューロペプチドの受容体としてニューロキニン1~3の受容体の存在が知られているがニューロキニン3受容体は気道には証明されていない²⁶⁾。受容体と神経伝達物質の対応は1対1ではないが, 選択性に差がありニューロキニン1受容体には主としてサブスタンスPが, ニューロキニン2受容体にはニューロキニンAが作用するとされており, FK-224 はそのニューロキニン1受容体とニューロキニン2受容体の拮抗剤である。気道上皮の障害は, 知覚神経終末の露出²⁷⁾, タヒキニンの主要な代謝酵素である neutral metallo-endopeptidase, エンケファリナーゼの減少²⁸⁾, 上皮細胞由来の弛緩物質の減少²⁷⁾などの点で, 神経原性炎症の反応系に増幅因子として作用するので, EB モデルの咳受容体感受性亢進には種々の因子が関与していることが予想されるが, 今回 FK-224 の腹腔内投与が咳受容体感受性を用量依存性に低下させたので, この EB モデルの咳受容体感受性亢進にもニューロペプチドが関与していることが示唆された。ニューロペプチド受容体拮抗剤の咳嗽抑制作用は臨床に応用できると期待される。

Fujimura ら²⁹⁾は, 気道過敏性成立に関与する炎症性化学伝達物質が気管支喘息と慢性気管支炎と異なり, 前者では TXA₂, 後者では prostaglandin F_{2 α} などが重要であるとしている。気道

の病態によって、関与する prostaglandins の種類や程度に違いが見られることが予想されたので、作製した EB モデルでも種々の化学伝達物質阻害剤を用いて TXA₂などの PGs が EB モルモットの咳受容体感受性に対して促進的に作用するのか、抑制的に作用するのかを検討した。EB モデルでは、シクロオキシゲナーゼ阻害剤であるインドメサシンにより咳受容体感受性が低下したので、シクロオキシゲナーゼ代謝物は全体として、咳嗽に対して促進的に作用していると考えられた。さらに、TXA₂受容体拮抗剤 (S-1452) の投与により咳受容体感受性が低下したので、内因性 TXA₂は咳嗽促進性に作用していると考えられた。また、TXA₂合成阻害剤 (OKY-046) の投与により咳受容体感受性は変化しなかったが、これはシクロオキシゲナーゼ代謝系における TXA₂の合成阻害が、prostaglandin E₂, prostaglandin I₂などの咳嗽誘発性の PGs の合成を誘導したために (escape mechanism), TXA₂の減少による咳受容体感受性の低下が結果として相殺されたためである。

このように、我々の作製した EB モデルは咳嗽のメカニズムの究明、ヒトの好酸球性気管支炎の治療研究にも役立つと思われる。

結 論

1. モルモットにポリミキシンBを点鼻することにより、好酸球性気管支炎 (EB) のモデルを作製した。好酸球浸潤の程度は気管で最も強く、末梢の気管支では軽度であった。また、肺胞領域ではほとんど変化は見られなかった。
2. ポリミキシンB点鼻群では、生理食塩水点鼻群より有意に咳受容体感受性が亢進した。
3. ポリミキシンB点鼻群では、生理食塩水点鼻群より有意に BALF 中の Eo (%)、気管上皮内に浸潤した好酸球数が増加し、気管上皮剝離の程度も強かった。
4. 咳受容体感受性亢進の程度は、気管上皮剝離の程度および BALF 中の Eo (%) と有意な相関関係を示した。
5. ポリミキシンB点鼻群のヒスタミンによる気道過敏性は、生理食塩水点鼻群と差がなかった。
6. 本 EB モデルの成立には I 型アレルギーの関与はみられなかった。
7. FK-224 投与群は、生理食塩水投与群より有意に咳受容体感受性が低下したので本モデルの咳受容体感受性亢進にニューロペプチドの関与が示唆された。したがって、ニューロペプチド受容体拮抗剤の咳嗽抑制作用は臨床に応用できると期待される。
8. インドメサシンおよび、S-1452 の腹腔内投与により咳受容体感受性は有意に低下した。したがって PGs 全体としては咳嗽に対して促進的に作用し、特に内因性 TXA₂は咳嗽促進性の PGs の一つである。
9. OKY-046 の腹腔内投与により咳受容体感受性は変化しなかったが、これはシクロオキシゲナーゼの代謝系における TXA₂の合成阻害が、PGE₂, PGI₂などの咳嗽誘発性の PGs の合成を誘導したために (escape mechanism), TXA₂の減少による咳受容体感受性の低下が結果として相殺されたためである。

謝 辞

稿を終えるに臨み、本研究の機会と御校閲を賜った松田 保教授ならびに、御指導、御校閲をいただいた、藤村政樹講師に深甚なる謝意を表

します。また、組織学的検討に多大なる御協力をいただいた金沢大学医学部寄生虫学教室、近藤力王至助教授、赤尾信明講師に深く感謝の意を表します。

尚、本論の要旨の一部は第4回日本アレルギー学会総会、第15回日本気管支学会総会において発表した。

文 献

- 1) Widdicombe, J. G.: Receptors in the trachea and bronchi of the cat. *J. Physiol.*, 123, 71-104 (1954).
- 2) Coleridge, H. M., Coleridge, J. G. G., Ginzler, K. H., Baker, D. G., Banzett, R. B. & Morrison, M. A.: Stimulation of "irritant" receptors and afferent C-fibres in the lungs by prostaglandins. *Nature*, 264, 451-453 (1976).
- 3) Irwin, R. S., Corrao, W. M. & Pratter, M. R.: Chronic persistent cough in adult: the spectrum and frequency of causes and successful outcome of specific therapy. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 12, 413-417 (1981).
- 4) McFadden, E. R. Jr.: Exertional dyspnea and cough as prelude to acute attacks of bronchial asthma. *N. Engl. J. Med.*, 292, 555-559 (1975).
- 5) 中島重徳: 気道アレルギー. *日気食会報*, 38, 114-124 (1987).
- 6) 藤村政樹: アトピー素因を有する咳嗽患者の臨床像—いわゆるアレルギー性気管支炎. *アレルギーの臨床*, 9, 66-69 (1989).
- 7) 藤村政樹, 坂本さゆり, 斎藤元泰, 渡辺 彰, 倉島一喜, 小川晴彦, 西 耕一, 中積泰人: Atopic cough に対するケトチフェンの有用性: 多施設臨床検討. *アレルギーの臨床*, 134, 62-68 (1991).
- 8) 藤村政樹: Atopic non-bronchoconstrictive cough の基礎と臨床. *呼吸*, 10, 1480-1487 (1991).
- 9) Nishi, K., Fujimura, M., Myou, S. & Ooka, T.: The importance of eosinophilic inflammation of the airways in chronic non-productive cough without asthma. *N. Eng. J. Med* (submitted).
- 10) 南 真司, 岡藤和博, 佐賀 務, 藤村政樹, 金森一紀, 宮保 進, 服部 絢, 川井 清: モルモットにおける定量的吸入負荷装置の開発. *日胸疾会誌*, 21, 252-258 (1983).
- 11) 藤村政樹: In vivo モルモットにおける slow-reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) による気道反応とステロイドの抑制作用—抗原および leukotriene C₄ の吸入負荷を用いての検討—. *アレルギー*, 32, 365-375 (1983).
- 12) 小川晴彦, 中村裕行, 高柳伊立, 安井正英, 藤村政樹, 松田 保: Acute eosinophilic pneumonia の2例と、その文献的考察. *日胸疾会誌*, 29, 746-752 (1991).
- 13) 小川晴彦, 中村裕行, 高柳伊立, 安井正英, 藤村政樹, 松田 保: 経過中に喘鳴を認めた Acute eosinophilic pneumonia の1例—気管支壁への好酸球浸潤と気道過敏性についての臨床的考察—. *日胸*, 50, 986-990 (1991).
- 14) 小川晴彦, 中村裕行, 高柳伊立, 安井正英, 藤村政樹, 松田 保: 一過性乾性咳嗽を呈した好酸球性気管支細気管支炎の1例—気管支喘息との鑑別を中心に—. *気管支学*, 14, 168-173 (1992).
- 15) Sun, X., Davis, W. B., Fukuda, Y., Ferrans, V. J. & Crystal, R. G.: Experimental polymyxin B-induced

- interstitial lung disease characterized by an accumulation of cytotoxic eosinophils in the alveolar structures. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131, 103-108 (1985).
- 16) Laycock, S. M., Smith, H. & Spicer, B. A.: Airway hyperreactivity and blood, lung and airway eosinophilia in rats treated with Sephadex particles. *Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol.*, 81, 363-367 (1986).
- 17) Nogami, M., Suko, M., Okudaira, H., Miyamoto, T., Shiga, J., Ito, M. & Kasuya, S.: Experimental pulmonary eosinophilia in mice by ascaris suum extract. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 141, 1289-1295 (1990).
- 18) Gleich, G. L. & Loegering, D.: Selective stimulation and purification of eosinophils and neutrophils from guinea pig peritoneal fluids. *J. Clin. Med.*, 85, 522-526 (1973).
- 19) Pincus, S. H.: Production of eosinophil-rich guinea pig peritoneal exudates. *Blood*, 52, 127-134 (1978).
- 20) Davis, W. B., Husney, R. M., Mohammed, B. S., Pawluk, L. J., Ackerman, G. A. & Sagone, A. L.: Activation and deactivation of guinea pig peritoneal eosinophils during chronic polymyxin B stimulation. *J. Leukocyte. Biol.*, 45, 147-154 (1989).
- 21) Kaufman, M. P., Coleridge, H. M., Coleridge, J. C. G. & Baker, D. G.: Bradykinin stimulates afferent vagal C-fibers in intrapulmonary airways of dogs. *J. Appl. Physiol.*, 48, 511-517 (1980).
- 22) Barnes, P. J., Belvisi, M. G. & Rogers, D. F.: Modulation of neurogenic inflammation: novel approaches to inflammatory disease. *Trends Pharmacol. Sci.*, 111, 185-189 (1990).
- 23) Kohrogi, H., Nadel, J. A., Malfroy, B., Gorman, C., Bridenbaugh, R., Patton, J. S. & Borson, D. B.: Recombinant human enkephalinase (neutral endopeptidase) prevents cough induced by tachykinins in awake guinea pigs. *J. Clin. Invest.*, 84, 781-786 (1989).
- 24) Jancso, N., Jancso-Gabor, A. & Szolcsanyi, J.: Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, 31, 138-151 (1967).
- 25) Barnes, P. J.: Asthma as an axon reflex. *Lancet*, 1, 242-245 (1986).
- 26) 木村定雄: タヒキニンファミリー—サブスタンスP, ニューロキニンA, ニューロキニンB—. *日臨*, 48, 962-968 (1990).
- 27) Aizawa, H., Miyazaki, N., Shigematsu, N. & Tomooka, M.: A possible role of airway epithelium in modulating hyperresponsiveness. *Br. J. Pharmacol.*, 93, 139-145 (1988).
- 28) Fujimura, M., Sakamoto, S. & Matuda, T.: Attenuating effect of a thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) on bronchial responsiveness to methacholine is specific to bronchial asthma. *Chest*, 98, 656-660 (1991).

Involvement of Cyclooxygenase Products and Neuropeptides in Increased Cough Receptor Sensitivity in Guinea Pigs with Eosinophilic Bronchitis Haruhiko Ogawa, Department of Internal Medicine (III), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. *Juzen Med Soc.*, 101, 751—761 (1992)

Key words cough receptor sensitivity, eosinophilic bronchitis, neuropeptides, cyclooxygenase products, guinea pigs

Abstract

The cough is a very common symptom in the general practice and chest clinic. A cough usually results from the stimulation of airway irritant receptors and bronchial C-fiber endings. It has been presumed that capsaicin, the active ingredient of red pepper, induces coughing mainly by stimulating the C-fiber endings. We used a cough provocation test in which the number of capsaicin-induced coughs was measured as an index representing the airway cough receptor sensitivity. A variant etiology of the persistent non-productive cough is associated with the accumulation of eosinophils in the bronchial wall. To clarify the mechanism of the cough, an animal model of eosinophilic bronchitis was developed. Transnasal administration of polymyxin B to guinea pigs (2 times per week for 3 weeks) produced eosinophilic bronchitis (EB). Bronchoalveolar lavage confirmed the presence of a significantly increased number of eosinophils in the polymyxin B treated animals compared with those in saline treated animals. In addition, the number of eosinophils in the epithelium of the trachea and the injury score of tracheal epithelium significantly increased in the polymyxin B treated animals. The number of capsaicin-induced coughs significantly increased in polymyxin B treated animals. There was also a significant correlation between the number of capsaicin-induced coughs and the number of eosinophils in the tracheal epithelial region and the injury score of tracheal epithelium. FK-224 (a neuropeptide receptor antagonist) decreased the frequency of capsaicin induced coughing in this EB model. These findings indicated that neuropeptides are responsible for heightened cough receptor sensitivity in the EB model. To elucidate whether endogenous TXA₂, a potent bronchoconstrictor, enhances the cough receptor sensitivity in eosinophilic bronchitis, effects of three chemical mediator inhibitors, indomethacin (a cyclooxygenase inhibitor), OKY-046 (a thrombox-

ane synthetase inhibitor) and S-1452 (a thromboxane receptor antagonist), were examined. Indomethacin and S-1452 significantly attenuated the capsaicin-induced cough. These findings suggest that endogenous TXA₂ increases the cough receptor sensitivity in the EB model. It is concluded that this new experimental model of eosinophilic bronchitis is useful for studying the mechanisms of coughing associated with the accumulation of eosinophils in bronchial wall.