

運動誘発喘息病態における浸透圧変化が  
モルモット気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響

日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野

服部知洋  
2014年  
指導教員 橋本 修

運動誘発喘息病態における浸透圧変化が  
モルモット気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響

日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野

服部知洋  
2014年  
指導教員 橋本 修

## 目次

1	要旨	1
2	はじめに	3
3	目的	9
4	材料および方法	10
5	結果	15
6	考察	18
7	まとめ	25
8	参考文献	27
9	図表	35
10	研究業績	46
11	謝辞	54

## **Abbreviations**

ANOVA “analysis of variance”

BALF “bronchoalveolar lavage fluid”

CF “cystic fibrosis”

CFTR “cystic fibrosis transmembrane conductance regulator”

cyclic-AMP “cyclic-adenosine monophosphate”

DIDS “4,4'-diisothiocyanatostilbe-2,2'-disulfonic acid”

DPC “diphenylamine-2-carboxylate”

DSCG “disodium cromoglycate”

EIA “exercise-induced asthma”

G “conductance”

Isc “short circuit current”

K-H “Krebs-Henseleit”

LIS “lateral intercellular spaces”

PAF “platelet activating factor”

PC “provocation concentration”

PD “potential difference”

SE “standard error”

## 1 要旨

**【背景】** 気道上皮細胞のイオントランスポートは気管支喘息の病態形成に重要な働きを演じており、気管支喘息の1つの病型である運動誘発喘息 (exercise-induced asthma: EIA) においてもその病態形成における役割が指摘されている。一方、EIA の発症機序に過換気に伴う気道の水分喪失による気道液浸透圧の上昇があげられ、浸透圧上昇による肥満細胞からロイコトリエンなどのケミカルメディエーター遊離、血管透過性亢進、気道上皮細胞からのサイトカイン産生などが関与すると指摘されている。しかし、浸透圧変化が気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響およびEIA病態形成における役割については不明な点が多い。

**【目的】** 浸透圧変化が気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響およびEIA病態形成における役割を明らかにするために、浸透圧変化のモルモット気道上皮イオントランスポートおよびイオントランスポートにおける各イオンチャネルへの影響とそれぞれの役割を検討した。

**【方法】** 高張食塩水及びマンニトールにより調整した高浸透圧溶液によるモルモット気道上皮イオントランスポートに対する影響を open circuit potential difference (open circuit PD) を測定することにより検討した。さらに、各種イオンチャネルの役割を明らかにするために、イオンチャネル阻害薬である  $\text{Cl}^-$  channel blocker の diphenylamine-2-carboxylate (DPC)、 $\text{Na}^+$  channel blocker の amiloride、および disodium cromoglycate (DSCG) の PD に対する効果を検討した。

**【結果】** その結果、1) 0.9%粘膜側等張食塩水-10.8%粘膜側高張食塩水負荷により PD は NaCl 濃度 3.6%まで上昇し、4.5%以上は減少した、2) DPC, amiloride, DSCG は、0.9%粘膜側等張食塩水-10.8%粘膜側高張食塩水負荷による PD の増加を抑制した、3) 1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷で PD の増加を認めたが、1.8%粘膜側高張食塩水と同浸透圧の 585mOsm/kgH<sub>2</sub>O 粘膜側マンニトール単独負荷では増加を認めなかった、また、Cl-free 溶液に負荷しても同様であった、4) 1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷後の組織学的検討では、DPC でのみ気道上皮の厚みの減少を有意に抑制した。

**【結語】** EIA の病態形成には気道液中の浸透圧変化だけでなく、Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>濃度の変化が重要と考えられた。また、浸透圧変化と cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup>チャネルの関与が推測された。

## 2 はじめに

### 1) 運動誘発喘息について

EIA は運動によって誘発される喘息発作であり、約 1800 年前に Aretaeus<sup>1)</sup>が運動により気道狭窄をおこすことを述べている。その後多くの検討がなされ、60 年前に Herxheimer<sup>2)</sup>は過換気刺激が気道狭窄をきたすことを報告している。運動は気道を収縮させる非薬理的、非免疫学的刺激の一つであり、EIA は 40～90%の喘息患者で見られるといわれている<sup>3)</sup>。

臨床的な特徴としては、(1) EIA は運動負荷後 5～10 分後に気道狭窄が最も強く起こり、30～45 分後には軽快する<sup>4)</sup>。(2) 希には 4～13 時間後に遅発型喘息を来すことがある<sup>5)</sup>。(3) EIA 患者の 50%で、EIA 後 1～3 時間以内の運動負荷では気道収縮が起こりにくくなる不応期がみられる<sup>6)</sup>。(4) 気道収縮の程度は負荷の時間と強さに比例し、吸入気の温度と湿度に影響され、乾燥冷気が気道収縮を起こしやすい<sup>4)7)</sup>。(5) 短時間作用型  $\beta_2$  刺激薬、抗アレルギー薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬などのさまざまな薬剤が EIA を抑制する<sup>8)</sup>などである。また、EIA の起こりやすさは、喘息の重症度や気道過敏性と関連するといわれている<sup>4)9)10)</sup>。運動あるいは過換気状態での気道収縮は気道粘膜の傷害を助長し<sup>11)</sup>、喘息の難治化につながるものが想定され、EIA の治療は重要であると考えられる。

EIA の病態はまだ不明な点が多い。運動に伴う換気増大によって気道収縮が起きることは明らかであり、気道の water loss (水分喪失) と heat loss (熱喪失) が引き金となっていると考えられている。Anderson<sup>12)</sup>は、過換気による気道粘膜からの水分喪失は気道液の浸

透圧の上昇を来たし、その刺激による局所の化学伝達物質の遊離が気道平滑筋収縮を起こすと述べている。EIA の病態について、図 1. に示した<sup>13)</sup>。

化学伝達物質の関与については、血清、尿、気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid: BALF) 中の種々のメディエーターを測定し検討されている。EIA において末梢血中のヒスタミンは上昇するという報告が多い<sup>14)15)</sup>。しかし、BALF 中では変化は見られていない<sup>16)</sup>。エイコサノイドの検討では動物実験においてプロスタグランジン D<sub>2</sub>、トロンボキサン B<sub>2</sub> の関与を示唆する報告があり、喘息患者での BALF ではロイコトリエンの上昇を認めた報告<sup>17)</sup>や変化が見られなかったとの報告<sup>16)</sup>もあり、一定の見解は得られていない。この相異は運動負荷により気管血流が増加しメディエーターのクリアランスを増加させるためと考えられている<sup>18)</sup>。

Anderson<sup>19)</sup>は過換気による気道上皮細胞からの水分喪失は、気道液浸透圧の上昇に伴い気道上皮細胞粘膜側に存在する volume-sensitive Cl<sup>-</sup>チャンネルを刺激すると述べている。

これまでに様々な薬剤の EIA に対する抑制効果を検討した報告がある。暖かく湿度の高い条件での運動は EIA の予防に効果がみられるが、薬剤による予防には以下の報告がある。短時間作用型  $\beta_2$  刺激薬は気道平滑筋の反応性を減少させ、標的細胞からのメディエーターの産生と遊離を抑制し、気管支循環系の血管拡張により乾燥気過換気における水分喪失を減少させるなどの作用により EIA を抑制することが考えられている。基本的には即時型反応しか抑制しない。長時間作用型  $\beta_2$  刺激薬 (Salmeterol, Formoterol) にも短時間作用型

と同様に EIA の抑制効果がみられる<sup>20)21)</sup>。

抗ヒスタミン薬、抗アレルギー薬は EIA に対する抑制効果があるとする報告もあるが、一般的にはその作用は弱い。DSCG や、海外では多く用いられている Nedocromil はメディエーター遊離抑制作用、迷走神経反射抑制作用、さらには Cl<sup>-</sup> channel blocker としての働き<sup>7)</sup>などにより、EIA を抑制することが知られている。運動前の 1～2 パフ吸入が有効である。エイコサノイド合成阻害薬・拮抗薬の一つであるロイコトリエン受容体拮抗薬について、我々の検討では Pranlukast の 2 週間投与において 55.5% (6 / 11 例) の患者に EIA 阻止効果を認めた<sup>22)23)</sup>。これ以外にも EIA を抑制した報告が多い<sup>24)25)</sup>。Zafilkast<sup>26)</sup>や Montelukast<sup>27)28)</sup>の検討でも EIA の抑制に有効であるとの報告が多い。さらに我々の検討では、Montelukast の単回投与 (負荷試験当日朝 9 時に montelukast 10mg を単回投与し、4 時間後に運動負荷試験を行った) でも 85.7% (6 / 7 例) の患者に有効以上 (阻止率 = 治療時運動前 FEV1.0 - 治療時運動後 FEV1.0 / 無治療時運動前 FEV1.0 - 無治療時運動後 FEV1.0 × 100 が 60%以下で有効) の EIA 阻止効果を認めている<sup>29)</sup>。トロンボキサン A2 合成阻害薬は EIA の阻止に対して有効であるとの報告<sup>30)</sup>があるが、受容体拮抗薬では我々の検討も含め有意な抑制効果は見られていない<sup>31)32)33)</sup>。その他、5-lipoxygenase 阻害薬<sup>34)</sup>や神経ペプチド拮抗薬<sup>35)</sup>や抗 PAF (Platelet activating factor) 薬<sup>36)</sup>も有効であったとの報告がある。

以上述べたように EIA の治療では、一般的には短時間作用型  $\beta_2$  刺激薬や DSCG の吸入が有効として用いられるが、ロイコトリエン受容体拮抗薬や長時間作用型  $\beta_2$  刺激薬などの薬剤にも抑制効果が

みられている。また、他の多くの薬剤が EIA の抑制効果を示すことは、逆にその病態が複雑であることを意味し、まだ不明な点が多く<sup>13)</sup>、今後一層の検討が必要であると考えられる<sup>37)</sup>。

## 2) 気道上皮イオントランスポートについて

気道上皮細胞の機能にはサイトカイン産生のほかに、イオントランスポートによる電気生理学的変化をもたらす、水分移動や気道炎症、気道収縮に関与している。さまざまな呼吸器疾患の病態において気道分泌が亢進することはよく知られている。気道粘液の成分は重量比で 95%以上が水分で、残りの 3%の蛋白、1%の脂質、1%のミネラルから構成されている<sup>38)</sup>。気道における水分移動は気道上皮細胞によるイオントランスポートを介して行われている。図 2. に気道上皮細胞のイオントランスポートとチャネル阻害薬を示す<sup>39)</sup>。気道上皮細胞の粘膜側に存在する Cl<sup>-</sup>チャネルは、cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup>チャネルと Ca<sup>2+</sup> dependent Cl<sup>-</sup>チャネルの 2 種類がある。また、Cl<sup>-</sup>チャネルの阻害薬としては、DPC, DIDS (4,4'-diisothiocyanatostilbe-2,2'-disulfonic acid), Furosemide などがある。いずれの阻害薬も特異性、親和性は低いが、DPC は cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup> channel blocker<sup>40)41)</sup>、DIDS は Ca<sup>2+</sup> dependent Cl<sup>-</sup> channel blocker<sup>42)43)</sup>として用いられることが多い。また、Na<sup>+</sup> channel の blocker には amiloride<sup>44)</sup>、漿膜面の Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase の blocker には ouabain<sup>45)</sup>、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransport の blocker には Furosemide<sup>45)</sup>、Bumetanide<sup>45)</sup>、K<sup>+</sup>チャネルの blocker には caribdotoxin<sup>46)</sup>が用いられ、blocker においては文献的に上記のような使い方が一般的である。

これらのイオントランスポートの働きによって Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>が移動

し、電気化学的勾配 (electrochemical potential gradient) が生じ、水分の移動が生じる<sup>47)</sup>。1990年代に入ってから呼吸器領域でのイオンチャネルの研究は嚢胞性線維症 (Cystic fibrosis: CF) の病態解明についての報告が多くみられている。1989年に positional cloning によって CF の原因となる遺伝子と、その産物の cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) が同定された<sup>48)</sup>。イオントランスポートはさまざまなメディエーターなどによって変化し、気道炎症における気道内水分分泌に影響を与えている。ヒトやイヌの培養気道上皮細胞を用いた実験報告もみられ、細胞内伝達機構の解明も盛んに行われている<sup>49)</sup>。

中枢気道における細胞内の  $\text{Na}^+$ 濃度は気道液のそれに比べ低いいため、管腔側粘膜面の  $\text{Na}^+$ チャネルを通じて受動的に吸収される。細胞内に入った  $\text{Na}^+$ イオンは漿膜面の  $\text{Na}$ ポンプ ( $\text{Na}^+-\text{K}^+$  ATPase) から漿膜側へ排出される。この時同時に  $\text{K}^+$ イオンは細胞内に流入する。ここで生じた電気化学勾配により、漿膜面の  $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ 共輸送体 (cotransport) を介して  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ 各イオンは細胞内に流入する。細胞内に入った  $\text{Na}^+$ イオンは  $\text{Na}$ ポンプによって、 $\text{K}^+$ イオンは漿膜面の  $\text{K}^+$ チャネルから排出される。一方、細胞内の  $\text{Cl}^-$ イオンは管腔側粘膜面の  $\text{Cl}^-$ チャネルによって粘膜側に排出される。 $\text{Na}^+$ と  $\text{Cl}^-$ によって作りだされる電気化学勾配によって水分移動が生じる (図 2.)<sup>39)</sup>。

これらのイオンチャネル、ポンプ、共輸送体の働きによって気道上皮細胞の水分輸送が機能している、呼吸器疾患においてもこれらの機能が異常を来すことが知られている。しかし、気管支喘息における気道上皮細胞のイオントランスポートについての報告は多くな

く、また不明な点も多く、今後一層の検討が必要であると考えられる<sup>50)</sup>。

### 3 目的

EIA の病態はまだ不明な点が多い。運動に伴う換気増大によって気道収縮が起きることは明らかであり、気道の water loss (水分喪失) と heat loss (熱喪失) が引き金となっていると考えられている。過換気による気道粘膜からの水分喪失は気道液の浸透圧の上昇を来し、その刺激により肥満細胞からロイコトリエンなどのケミカルメディエーター遊離、血管透過性亢進、気道上皮細胞からのサイトカイン産生などが関与し、気道平滑筋収縮を起こすとされている。一方、気道上皮細胞の機能にはサイトカイン産生のほかに、イオントランスポートによる電気生理学的変化をもたらし、水分移動や気道炎症、気道収縮に関与している。さまざまな呼吸器疾患の病態において気道分泌が亢進することはよく知られている。中でも、気管支喘息の病態形成にイオントランスポートは重要な働きを演じており、気管支喘息の1つの病型である EIA においてもその病態形成における役割が指摘されている。しかし、water loss による浸透圧上昇が気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響および EIA 病態形成における役割については不明な点が多い。今回我々は、浸透圧変化が気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響および EIA 病態形成における役割を明らかにするために、高張食塩水及びマンニトールを用いた高浸透圧溶液による浸透圧変化のモルモット気道上皮イオントランスポートおよびイオントランスポートにおける各イオンチャンネルへの影響とそれぞれの役割について、open circuit PD を測定することにより検討した。

## 4 材料および方法

### 1) 動物

動物はハートレイ系雄モルモット 300-400g を用い、対象にペントバルビタール (大日本製薬株式会社製, 東京, 日本) 50mg/kg を腹腔内より投与し麻酔下に固定、頸部を縦切開して気管を露出させ、甲状軟骨直下から気管分岐部直上までの気管を摘出した。なお、全ての動物実験は日本実験動物学会の動物実験に関する指針に従って行った。

### 2) イオントランスポート測定

気道上皮イオントランスポートの測定には、Ussing chamber (World Precision Instruments 社製, USA) と短絡電流測定装置を用いた膜電位固定法 (Voltage clamp 法) が用いられる。図 3. に Ussing chamber の構成図を、図 4. に実物写真を示す。摘出したモルモット気管を直ちに膜様部で縦切開し、氷冷した Krebs-Henseleit (K-H) 溶液 (組成:  $\text{Na}^+$  143.9,  $\text{K}^+$  5.6,  $\text{Ca}^{2+}$  1.9,  $\text{Mg}^{2+}$  1.2,  $\text{Cl}^-$  117.6,  $\text{HCO}_3^-$  25.0,  $\text{acetate}^-$  5.6,  $\text{gluconate}^-$  3.8,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  1.3,  $\text{SO}_4^{2-}$  1.2, glucose 5.6 (mM), 37°C, pH 7.4) で血液成分とその他を除去した後に ussing chamber にマウントし、95% $\text{O}_2$ , 5% $\text{CO}_2$  で吹送平衡させた K-H 溶液を粘膜側と漿膜側にそれぞれ別々に還流させ、chamber 装着後 30 分間静置し、base line の short circuit current ( $I_{sc}$ ) が安定した後に、 $I_{sc}$  が 5-15 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  の気管で以下の実験を行った。また、イオントランスポート及び各種刺激薬剤に対するイオントランスポートの影響を評価するために、イオンチャネルブロッカーを用い同様に実験を行った。

短絡電流測定には Short Circuit Current Amplifier, Thermal Array

Recorder (日本光電社製短絡電流測定装置, CEZ-9100, 東京, 日本) を用いた。chamber に 3M の KCl agar bridge を挿入し組織間の電位差 (potential difference: PD) を open circuit で測定する。また、0.9%NaCl agar bridge を用いて両 chamber 間に 10, 20  $\mu$ A の puls current を 1 秒間流し、その電位変化からオームの法則 ( $V = R I$ ) により組織の抵抗 (conductance:  $G = 1 / R$ ) を求める。また、短絡電流 ( $I_{sc}$ ) は Voltage clamp 法により経時的に測定した。 $I_{sc}$  とは PD を 0mV、すなわち電氣的に電気化学的濃度勾配 (electro-chemical potential gradient) を 0 にすることでイオンの受動輸送を除去した際に流れる電流量を意味し、これは net の能動イオン輸送の量を反映するものとされている。

### 3) 高張食塩水負荷及び各種チャネル阻害薬における気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響

0.9%粘膜側等張食塩水-10.8%粘膜側高張食塩水負荷に対する PD の変動を経時的に測定した。なお刺激濃度変化は、粘膜側 ussing chamber 内の高張食塩水を 10 分間隔で 0.9%おきに順次負荷した。負荷後は 1 分間隔で PD を経時的に測定し、各刺激濃度の PD にはピーク値を用いた。

等張食塩水及び高張食塩水の投与法は、粘膜側 ussing chamber 内の K-H 溶液を 1ml 除去し、直ちに刺激濃度になるように調整した高張食塩水 1ml (K-H 溶液で溶解) を負荷した。その際、漿膜側 ussing chamber 内の K-H 溶液は残したままとした。高張食塩水を用いたすべての実験において、負荷方法は同様に行った。

次に、0.9%粘膜側等張食塩水投与 5 分前に前処置として粘膜側に

Na<sup>+</sup> channel blocker の amiloride ( $1 \times 10^{-4} \text{M}$ )<sup>44)</sup> (Sigma 社製, St. Louise, MO, USA) 、Cl<sup>-</sup> channel blocker の DPC ( $1 \times 10^{-3} \text{M}$ )<sup>40)41)</sup> (東京化成工業株式会社製, 東京, 日本) 、DSCG ( $1 \times 10^{-3} \text{M}$ ) (Sigma 社製, St. Louise, MO, USA) を投与し、0.9%粘膜側等張食塩水-10.8%粘膜側高張食塩水負荷に対する PD の変動を経時的に測定した。

#### 4) Provocation concentration (PC) 50 高張食塩水及び PC50 同浸透圧マンニトール単独負荷における気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響、及び PC50 高張食塩水単独負荷における Cl<sup>-</sup>チャンネルブロッカーの影響

PC50 に相当する粘膜側高張食塩水と、同浸透圧の粘膜側マンニトールを用いて PD を測定した。粘膜側 ussing chamber 内の高張食塩水及びマンニトール濃度が刺激濃度になるように単独負荷し、負荷後は 1 分間隔で PD を経時的に 10 分間測定し、各刺激濃度の PD にはピーク値を用いた。

マンニトールの投与法は、粘膜側 ussing chamber 内の K-H 溶液を 2ml 除去し、直ちに刺激濃度になるように調整したマンニトール溶液 2ml (K-H 溶液で溶解) を負荷した。その際、漿膜側 ussing chamber 内の K-H 溶液は残したままとした。マンニトールを用いたすべての実験において、負荷方法は同様に行った。

次に、PC50 粘膜側高張食塩水投与 5 分前に前処置として粘膜側に Cl<sup>-</sup> channel blocker の DPC 及び DIDS ( $5 \times 10^{-4} \text{M}$ )<sup>42)43)</sup> (Sigma 社製, St. Louise, MO, USA) を投与し、PC50 粘膜側高張食塩水による単独投与後の PD を計測した。

#### 5) Cl-free 溶液を用いた PC50 高張食塩水及び PC50 同浸透圧マン

## ニトール単独負荷における気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響

還流液を K-H 溶液の代わりに Cl-free 溶液 (組成: Na gluconate 126, NaHCO<sub>3</sub> 25.0, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.8, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.0, Ca digluconate 10, MgSO<sub>4</sub> 0.8, glucose 5.6 (mM), 37°C, pH 7.4) とし、PC50 粘膜側高張食塩水及び PC50 同浸透圧粘膜側マンニトールによる単独投与後の PD を計測した。

なお Cl-free 溶液は K-H 溶液作成時の NaCl を Na gluconate、KCl に対し KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> で、CaCl<sub>2</sub> を Ca digluconate にそれぞれ置換し作成した。

## 6) PC50 高張食塩水及び PC50 同浸透圧マンニトール単独負荷における気道上皮細胞の組織学的変化、及び各種チャネル阻害薬の影響

PC50 粘膜側高張食塩水及び PC50 同浸透圧両側マンニトール単独負荷による気道上皮細胞の組織学的変化を、光学顕微鏡下にて気道上皮の厚みを観察することにより比較検討した。PC50 粘膜側高張食塩水及び PC50 同浸透圧両側マンニトールによる単独投与後の PD を計測、直ちに気管を取り出しホルマリン固定し標本作製を行った。気道上皮の厚みは、基底膜から気道上皮細胞の粘膜側までの高さを測定し評価した。なお、1 検体につき 5 視野を検鏡し、その平均値を気道上皮の厚さとした。

次に、PC50 粘膜側高張食塩水及び PC50 同浸透圧両側マンニトール投与 5 分前に前処置として粘膜側に amiloride, DPC, DSCG を投与し、PC50 粘膜側高張食塩水及び PC50 同浸透圧両側マンニトールによる単独投与後の PD を計測、直ちに気管を取り出しホルマリン固定し標本作製を行った。その後、検鏡にて気道上皮の厚みを測定し

評価した。

## 7) 統計

実験成績の有意差検定は unpaired Student's t-test (Stat View 5.0 日本語版, HULINKS Inc., 東京, 日本) 及び ANOVA (IBM SPSS Statistics Version 21.0, SPSS Inc., an IBM Company, Chicago) を用いて  $p < 0.05$  を有意差ありとし、すべてのデータは平均値±標準誤差 (SE) で示した。

## 5 結果

### (1) 0.9%粘膜側等張食塩水-10.8%粘膜側高張食塩水負荷及び各種チャンネル阻害薬における気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響

コントロールにおいて、PD は NaCl 濃度 3.6%まで上昇し 4.5%以上は減少した (n=14)。amiloride 前処置では 1.8%と 10.8%で、コントロールと比べ PD の有意な抑制を認めた ( $p<0.05$ , n=18)。DPC 前処置では 1.8%以上すべての濃度において、コントロールと比べ PD の有意な抑制を認めた ( $p<0.01$ , 9.0%のみ  $p<0.05$ , n=21)。DSCG 前処置では1.8%から 6.3%までと 8.1%及び 10.8%で、コントロールと比べ PD の有意な抑制を認めた (1.8%  $p<0.01$ , 2.7%以上  $p<0.05$ , n=21) (図 5.)。

0.9%粘膜側等張食塩水-10.8%粘膜側高張食塩水負荷における PD の代表的経時的トレースを示した (図 6.)。0.9%等張食塩水-10.8%高張食塩水を粘膜側の K-H 溶液に順次負荷すると、3.6%をピークにトレースの如く波形の振幅は減衰した。

0.9%粘膜側等張食塩水-10.8%粘膜側高張食塩水負荷における PD の最大増加は 3.6%高張食塩水負荷時に認められたことより、以下の実験の高張食塩水刺激濃度には PC50 に相当する 1.8%高張食塩水を用いた。また粘膜側マンニトール負荷の刺激濃度は、1.8%高張食塩水と同浸透圧の 585mOsm/kgH<sub>2</sub>O マンニトールを用いた。

### (2) 1.8%高張食塩水及び 585mOsm/kgH<sub>2</sub>O マンニトール単独負荷における気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響、及び 1.8%高張食塩水単独負荷における Cl<sup>-</sup>チャンネルブロッカーの影響

1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷により PD は  $0.42\pm 0.21\text{mV}$  から  $4.98\pm 0.58\text{mV}$  ( $n=6$ ) と増加した。585mOsm/kgH<sub>2</sub>O 粘膜側マンニトール単独負荷により PD は  $0.20\pm 0.08\text{mV}$  から  $-0.05\pm 0.06\text{mV}$  ( $n=4$ ) と変化し、増加を認めなかった (図 7.)。

DPC 前処置による 1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷の PD は  $0.33\pm 0.06\text{mV}$  から  $3.26\pm 0.19\text{mV}$  ( $n=23$ ) と変化し、増加を有意に抑制した ( $p<0.05$ )。DIDS 前処置による 1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷の PD は  $0.47\pm 0.21\text{mV}$  から  $3.96\pm 0.22\text{mV}$  ( $n=7$ ) と変化し、抑制はみられなかった (図 7.)。

### (3) Cl-free 溶液を用いた 1.8%高張食塩水及び 585mOsm/kgH<sub>2</sub>O マンニトール単独負荷における気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響

Cl-free 溶液を用いた 1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷において PD は  $0.43\pm 0.24\text{mV}$  から  $5.83\pm 0.59\text{mV}$  ( $n=6$ ) へと増加がみられたが、585mOsm/kgH<sub>2</sub>O 粘膜側マンニトール単独負荷において PD は  $0.22\pm 0.10\text{mV}$  から  $-1.02\pm 0.43\text{mV}$  ( $n=5$ ) へと低下がみられた (図 8.)。

### (4) 1.8%高張食塩水及び 585mOsm/kgH<sub>2</sub>O マンニトール単独負荷における気道上皮細胞の組織学的変化、及び各種チャネル阻害薬の影響

正常気道上皮の厚さ (control) は  $44.77\pm 0.7\mu\text{m}$  ( $n=28$ ) であった。また 1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷後の気道上皮の厚さは  $20.3\pm 0.94\mu\text{m}$  ( $n=10$ ) であり、585mOsm/kgH<sub>2</sub>O 両側マンニトール単独負荷後の気道上皮の厚さは  $17.95\pm 0.97\mu\text{m}$  ( $n=14$ ) であった (図 9., 図 10.)。

1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷時の各種チャンネル阻害薬を用いた気道上皮の厚さは、amiloride 前処置では  $22.83 \pm 1.94 \mu\text{m}$  (n=9) であった。DPC 前処置では  $25.36 \pm 1.1 \mu\text{m}$  (n=16) と 1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷に対して有意に気道上皮の厚みの低下を抑制した ( $p < 0.01$ )。DSCG 前処置では  $23.2 \pm 1.27 \mu\text{m}$  (n=11) であった。また 585mOsm/kgH<sub>2</sub>O 両側マンニトール単独負荷時のそれぞれの気道上皮の厚さは、amiloride 前処置では  $18.15 \pm 1.12 \mu\text{m}$  (n=12) 、DPC 前処置では  $19.7 \pm 1 \mu\text{m}$  (n=8) 、DSCG 前処置では  $19.37 \pm 0.92 \mu\text{m}$  (n=10) で、有意な抑制を認めなかった (図 9., 図 10.)。

## 6 考察

気道上皮細胞のイオントランスポートは気道液の量や性状を規定する重要な因子とされている<sup>51)</sup>。中枢気道の気道上皮細胞において Na 吸収、Cl 分泌によって生じる電気化学勾配 (electrochemical gradient) により水分移動が引き起こされる<sup>52)53)</sup>。したがって、気道上皮細胞イオントランスポートは気道の水分移動に重要な役割を果たしていると考えられている。

イオントランスポートに伴う PD の変化は気管支喘息における気道収縮に関与していることが電気生理学的面から考えられ、PD の変化と気道上皮の厚みの変化の関連を直接観察することも気管支喘息や EIA の病態を理解する上で重要と考えられた。そこで今回我々は、高張食塩水及びマンニトール負荷におけるモルモット気道上皮イオントランスポートの変化について open circuit PD を測定することにより評価し、また気道上皮の厚みと組織学的変化を光学顕微鏡にて観察し、浸透圧変化の影響について検討した。

0.9%粘膜側等張食塩水-10.8%粘膜側高張食塩水負荷において、DPC, amiloride 及び DSCG は PD を有意に抑制した。また K-H 溶液及び Cl-free 溶液を別々に用いた場合、1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷において PD の明らかな増加を認めたが、585mOsm/kgH<sub>2</sub>O 粘膜側マンニトール単独負荷では増加を認めなかった。以上の結果から EIA の病態形成には気道液中の浸透圧変化だけでなく、Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>チャネルを介した Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>イオンの移動がモルモット気道上皮において重要な役割を担っていると考えられた。

0.9%粘膜側等張食塩水-10.8%粘膜側高張食塩水負荷時のコントロ

ールにおいて、PD は NaCl 濃度 4.5%以上で減少した。その理由としては、抵抗の上昇、気道上皮細胞が水分移動で縮小し細胞内の電解質濃度が上昇することにより電解質移動が減少する、また、気道上皮細胞が縮小し正常なチャネル機能が働かず電解質移動が減少する、高 Na<sup>+</sup>濃度そのものが amiloride 感受性 Na<sup>+</sup>チャネルを阻害する<sup>54)</sup>などが考えられた。

585mOsm/kgH<sub>2</sub>O 粘膜側マンニトール単独負荷では、K-H 溶液でも Cl-free 溶液でも、PD が減少していた。PD は、粘膜側と漿膜側のプラスイオンとマイナスイオンの流れによって発生するが、マンニトール負荷により粘膜側からの Na<sup>+</sup>イオンの吸収と Cl<sup>-</sup>イオンの排出のアンバランスにより PD が減少したと考えられた。

Anderson らは、4.5%食塩水吸入による気道収縮に対する budesonide 治療前後での DSCG の急性効果について検討している。budesonide 単独治療よりも DSCG と budesonide の 2 剤による治療の方がより気道収縮を阻害し、その阻害機序に Cl<sup>-</sup>チャネルの制御変化が関与していると述べている<sup>55)</sup>。

気道上皮細胞の粘膜側に存在する Cl<sup>-</sup>チャネルは、cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup>チャネルと Ca<sup>2+</sup> dependent Cl<sup>-</sup>チャネルの 2 種類がある。また、Cl<sup>-</sup>チャネルの阻害薬としては、DPC, DIDS, Furosemide などがある。いずれの阻害薬も特異性、親和性は低いが、DPC は cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup> channel blocker<sup>40)41)</sup>、DIDS は Ca<sup>2+</sup> dependent Cl<sup>-</sup> channel blocker<sup>42)43)</sup>として用いられることが多い。

今回の我々の検討では 1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷において、PD は DPC の前処置で有意に抑制されたが、DIDS では抑制されな

かった。以上の結果はモルモット気道上皮において cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup>チャンネルが関与していると示唆され、気道分泌の制御にも関与しているのではないかと考えられた。

以前我々は、気管支喘息モデルとして卵白アルブミン感作モルモットの気管を用いて、 $\beta_2$  刺激薬である硫酸テルブタリンのイオントランスポートへの影響について検討し、気道上皮細胞において cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup>チャンネルが喘息病態に関与していると報告した<sup>56)</sup>。また、テオフィリンがウサギ気道上皮細胞イオントランスポートの cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup>チャンネルに影響を与え、Cl<sup>-</sup>分泌に働き、気道の水分移動に関与することも報告している<sup>57)</sup>。

Kondo らは、イヌ気管上皮を用いて静水圧及び浸透圧負荷を与え、上皮の透過性を ussing chamber 法を用いて電子顕微鏡で検討しており、漿膜側の静水圧及び浸透圧負荷では気道上皮細胞間隙 (lateral intercellular spaces: LIS) の著明な開大を認めたが、粘膜側の静水圧及び浸透圧負荷では形態学的変化は軽微であったと述べている<sup>58)</sup>。

今回我々の検討において、1.8% 粘膜側高張食塩水及び 585mOsm/kgH<sub>2</sub>O 両側マンニトール単独負荷によるモルモット気道上皮の厚みは、正常気道上皮に比べ両負荷とも有意に減少していたが、組織学的変化の相異は認めなかった。また我々の光学顕微鏡を用いた検討では LIS の開大ははっきりしなかった。以上の結果より、高張食塩水及びマンニトール負荷によるモルモット気道上皮への影響は Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup> イオンの移動や浸透圧の変化が関与するものの、両者の影響だけでは説明できず今後は電子顕微鏡による検討が必要であると考えられ、LIS の開大や細胞膜の形態学的な変化などが想定され

た。

各種チャネル阻害薬を用いた 1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷における組織学的変化は、DPC 前処置でのみ有意にモルモット気道上皮の厚みの減少を抑制していた。また amiloride 及び DSCG 前処置においても減少を抑制する傾向が認められた。組織学的変化の検討から Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>チャネルがモルモット気道上皮の気道分泌に関与していることが考えられ、cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup>チャネルがより関与していると示唆された。また、585mOsm/kgH<sub>2</sub>O 両側マンニトール単独負荷における組織学的変化は、DPC, amiloride 及び DSCG 前処置において明らかな相異を認めず、各種チャネル阻害薬を用いた組織学的変化の検討からも、今後は電子顕微鏡による検討が必要であると、前述と同様に考えられた。

浸透圧の刺激がどのように気道収縮に関与するかは明らかではない。森本らは過換気負荷気道収縮を認めた感作ウサギを用いて、高張食塩水吸入誘発気道収縮の機序について検討しているが、高浸透圧溶液は気道の water loss を引き起こし、感作ウサギにおける気道粘膜の浸透圧を上昇させると考えられ、この変化がコリン作動性神経終末と迷走神経系を刺激し気管支平滑筋収縮を起こすと述べている<sup>59)</sup>。また Jackson らは、ウサギの迷走神経に対する nedocromil sodium の影響を検討し、nedocromil sodium の Cl<sup>-</sup>チャネルに対する阻害作用がウサギの迷走神経に対しても認められると述べている<sup>60)</sup>。さらに Brannan らは、マンニトールが気道収縮を引き起こす機序について述べており、乾燥気過換気とマンニトール吸入が細胞容積制御機能を障害し、部分的に細胞容積が増大すること、細胞内 Ca<sup>2+</sup>イ

オンの増加がメディエーター分泌を引き起こす、肥満細胞からメディエーター分泌を引き起こす、c-fiber などの感覚神経を介したり、ニューロペプチドの分泌などを考えている<sup>61)</sup>。これらのデータは浸透圧の刺激が神経系を介する可能性を示唆しており、実際に、浸透圧変化による知覚神経の刺激は動物実験において報告されている<sup>62)63)</sup>。今回はモルモットでの *in vitro* の検討で、これらの報告と単純に比較することは不可能であるが、イオントランスポートによる PD の変化が c-fiber を刺激し、気道収縮を起こす可能性も考えられた。

EIA において、運動がマスト細胞を活性化させる誘因あるいは機序について明らかではないが、以下のように考えられる。アレルギー性炎症などによって傷害された気道上皮に知覚神経末端が露出し、運動による過換気に伴う気道の水分喪失による気道液浸透圧の上昇が知覚神経の興奮を引き起こし、この神経興奮により神経組織から分泌したサブスタンス P がマスト細胞の受容体に結合し、マスト細胞からヒスタミンなどの化学伝達物質を放出させ気道収縮を引き起こす<sup>64)65)</sup>ことが想定される。実際に、浸透圧変化による知覚神経の刺激は動物実験において報告されており<sup>62)63)</sup>、高張食塩水吸入の誘発によるヒト喀痰においてはサブスタンス P が含まれ<sup>66)</sup>、ヒトマスト細胞におけるサブスタンス P の作用はニューロキニン 1 受容体を介することが示唆される<sup>67)</sup>と報告されている。しかし、ニューロキニン 1 受容体拮抗薬である CP-99, 994 は、喘息患者における高張食塩水誘発による気道収縮に対しては防御できず<sup>68)</sup>、他のニューロキニン 1 受容体拮抗薬である FK-888 は、喘息患者における運動誘発気道収縮の進展を抑制できなかつた<sup>35)</sup>と報告されており、サブスタ

ンス P などの神経ペプチドがどこまで EIA 病態形成に関与しているかは明らかではない。

仮説として想定した高張食塩水及びマンニトールを用いた高浸透圧溶液による PD の変化は、両者とも振幅の大小はあるが単純に上昇するものと考えていた。しかし、マンニトールを用いた高浸透圧溶液では PD の上昇を認めず、 $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  の存在が重要と考えられた。

浸透圧変化が、PD の変化にどのように関与しているのかは明らかではない。しかし、前記したように、気道液浸透圧の上昇が露出した知覚神経末端の興奮を引き起こし、この神経興奮により神経組織から分泌したサブスタンス P が PD の変化に関与している可能性が考えられた。実際、サブスタンス P が粘液や  $\text{Cl}^-$  の分泌を増加させることが報告されている<sup>52)69)</sup>。EIA の病態形成には気道液中の浸透圧変化だけでなく、 $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  濃度の変化が重要と考えられたが、高張食塩水及びマンニトールを用いた高浸透圧溶液による PD の変化の相異から、 $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  濃度の変化がより大きく関与しているものの、神経組織から分泌したサブスタンス P なども PD の変化に関与している可能性が考えられた。

EIA は water loss が病態に大きく関与しているとされている。しかし、今回の我々の検討では、モルモット気道上皮において water loss の結果生じる単純な浸透圧変化だけではなく、気道液中の  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  イオン濃度の変化を伴うことが重要であると考えられた。また、浸透圧変化が気道上皮細胞イオントランスポートに及ぼす影響や各種チャンネル阻害薬の効果より、cyclic-AMP dependent  $\text{Cl}^-$  チャンネルが EIA の病態において関与することが考えられた<sup>70)</sup>。

今回の検討で得られた知見を、図 1. に追加し図 11. に示した。  
water loss の結果生じる単純な浸透圧の上昇だけでなく、気道液中の  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  イオン濃度の上昇を伴うことが重要であると考えられた。また、 $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  イオン濃度の上昇によりイオントランスポートに伴う電気生理学的変化、すなわち PD の変化が肥満細胞からメディエーター分泌を引き起こしたり、気道収縮に直接関与していることが考えられた。さらに、 $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  イオン濃度の上昇によりイオントランスポート、すなわち cyclic-AMP dependent  $\text{Cl}^-$  チャンネルが関与し電気生理学的変化、つまり PD の変化が引き起こされていると推測された。

## 7 まとめ

今回我々は、浸透圧変化がモルモット気道上皮のイオントランスポートに及ぼす影響を検討した。高張食塩水及びマンニトールにより調整した高浸透圧溶液によるモルモット気道上皮イオントランスポートに対する影響を、open circuit PD を測定することにより検討した。

DPC, amiloride, DSCG は、0.9%粘膜側等張食塩水-10.8%粘膜側高張食塩水負荷による PD の増加を抑制した。1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷で PD の増加を認めたが、1.8%粘膜側高張食塩水と同浸透圧の585mOsm/kgH<sub>2</sub>O 粘膜側マンニトール単独負荷では増加を認めなかった。また、Cl-free 溶液に負荷しても同様であった。1.8%粘膜側高張食塩水単独負荷後の組織学的検討では、DPC でのみ気道上皮の厚みの減少を有意に抑制した。以上の検討より、特に EIA の病態形成には気道液中の浸透圧変化だけでなく、Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>濃度の変化が重要と考えられた。また、浸透圧変化と cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup>チャネルの関与が推測された。

近年、気管支喘息の病態において気道上皮細胞の関与が注目されている。また、気道上皮イオントランスポートは気道分泌に重要な役割を果たしている。治療面では、気管支喘息の治療薬である DSCG が抗アレルギー作用のみでなく Cl<sup>-</sup> channel blocker としての作用も報告されており、EIA についても同様なことが報告されている。

EIA の発症誘因に、過換気に伴う水分喪失による気道液浸透圧の上昇が考えられている。しかし、浸透圧変化が気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響や、EIA 病態形成における役割については

不明な点が多い。

今回の検討より、特に EIA の病態形成には気道液中の浸透圧変化だけでなく、 $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ 濃度の変化が重要と考えられた。また、浸透圧変化と cyclic-AMP dependent  $\text{Cl}^-$ チャンネルの関与が推測された。これらの知見は、今後の EIA の病態解明や治療を発展させる上で有意義と考えられた。

## 8 参考文献

- 1) Adams F. The extant works of Aretaeus the Cappadocian. London: Sydenham Society; 1856. p. 316.
- 2) Herxheimer H. Hyperventilation asthma. *Lancet* 1946; 19: 83-7.
- 3) McFadden ER Jr.. Exercise-induced asthma, 1. Exercise-induced asthma: A historical review and modern concepts. In: McFadden ER Jr., editor. *Lung Biology in Health and Disease*, Volume 130. New York: Marcel Dekker, Inc; 1999. p. 1-10.
- 4) Godfrey S. Exercise-induced asthma, 2. Clinical and physiological features. In: McFadden ER Jr., editor. *Lung Biology in Health and Disease*, Volume 130. New York: Marcel Dekker, Inc; 1999. p. 11-45.
- 5) Hejal RB, McFadden ER Jr.. Exercise-induced asthma, 9. Late reactions and exercise-induced asthma. In: McFadden ER Jr., editor. *Lung Biology in Health and Disease*, Volume 130. New York: Marcel Dekker, Inc; 1999. p. 193-208.
- 6) Anderson SD. Inflammatory mechanisms in asthma, 37. Inflammatory mediators and exercise-induced asthma. In: Holgate ST, Busse WW, editor. *Lung Biology in Health and Disease*, Volume 117. New York: Marcel Dekker, Inc; 1998. p. 861-90.
- 7) Anderson SD, Daviskas E. Exercise-induced asthma, 4. Airway drying and exercise-induced asthma. In: McFadden ER Jr., editor. *Lung Biology in Health and Disease*, Volume 130. New York: Marcel Dekker, Inc; 1999. p. 77-113.
- 8) Parry DE, Lemanske RF Jr.. Exercise-induced asthma, 13. Prevention and treatment of exercise-induced asthma. In: McFadden ER Jr., editor. *Lung Biology in Health and Disease*, Volume 130. New York: Marcel Dekker, Inc; 1999. p. 287-317.
- 9) Teeter JG, Bleecker ER. Exercise-induced asthma, 10. Exercise, hyperventilation, and nonisotonic aerosols in exercise-induced asthma. In: McFadden ER Jr., editor. *Lung Biology in Health and Disease*, Volume 130. New York: Marcel Dekker, Inc; 1999. p. 209-33.
- 10) Smith L. Exercise-induced asthma, 11. Exercise testing in adults and

- children. In: McFadden ER Jr., editor. Lung Biology in Health and Disease, Volume 130. New York: Marcel Dekker, Inc; 1999. p. 235-58.
- 11) Freed AN. Exercise-induced asthma, 14. Experimental models of exercise-induced asthma. In: McFadden ER Jr., editor. Lung Biology in Health and Disease, Volume 130. New York: Marcel Dekker, Inc; 1999. p. 319-49.
  - 12) Anderson SD, Schoeffel RE, Follet R, Perry CP, Daviskas E, Kendall M. Sensitivity to heat and water loss at rest and during exercise in asthmatic patients. *Eur J Respir Dis* 1982; 63: 459-71.
  - 13) Makker HK, Holgate ST. Mechanisms of exercise-induced asthma. *Eur J Clin Invest* 1994; 24: 571-85.
  - 14) Anderson SD, Bye PT, Schoeffel RE, Seale JP, Taylor KM, Ferris L. Arterial plasma histamine levels at rest, during and after exercise in patients with asthma: effects of terbutaline aerosol. *Thorax* 1981; 36: 259-67.
  - 15) Hartley JP, Charles TJ, Monie RD, Seaton A, Taylor WH, Westwood A, Williams JD. Arterial plasma histamine after exercise in normal individuals and in patients with exercise-induced asthma. *Clin Sci* 1981; 61: 151-7.
  - 16) Broide DH, Eisman S, Ramsdell JW, Ferguson P, Schwartz LB, Wasserman SI. Airway levels of mast cell-derived mediators in exercised-induced asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 563-8.
  - 17) Pliss LB, Ingenito EP, Ingram RH Jr, Pichurko B. Assessment of bronchoalveolar cell and mediator response to isocapnic hyperpnea in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 73-8.
  - 18) Wagner EM, Mitzner WA. Bronchial circulatory reversal of methacholine- induced airway constriction. *J Appl Physiol* 1990; 69: 1220-4.
  - 19) Anderson SD, Rodwell LT, Daviskas E, Spring JF, du Toit JI. The protective effect of nedocromil sodium and other drugs on airway narrowing provoked by hyperosmolar stimuli: A role for the airway epithelium ? *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: S124-34.

- 20) Richter K, Janicki S, Jörres RA, Magnussen H. Acute protection against exercise-induced bronchoconstriction by formoterol, salmeterol and terbutaline. *Eur Respir J* 2002; 19: 865-71.
- 21) Coreno A, Skowronski M, Kotaru C, McFadden ER Jr. Comparative effects of long-acting beta2-agonists, leukotriene receptor antagonists, and a 5-lipoxygenase inhibitor on exercise-induced asthma. *Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 500-6.
- 22) Suguro H, Majima T, Ichimura K, Hashimoto N, Koyama S, Horie T. Effect of a leukotriene antagonist, pranlukast hydrate, on exercise-induced bronchoconstriction. *Am Respir Crit Care Med*. 1997; 155: A662.
- 23) 勝呂 元, 馬島 徹, 服部知洋, 市村浩一, 橋本奈緒美, 堀江孝至. Pranlukast Hydrate 2 週間投与による運動誘発喘息抑制効果の検討. *アレルギー* 2000; 49: 646-52.
- 24) 西間三馨, 古庄巻史, 森川昭廣, 望月博之, 赤坂徹, 杉本日出雄, 池部敏市, 西牟田敏之, 関根邦夫, 山田政功, 小田嶋博, 本村知華子, 大和谷厚, 日本小児アレルギー学会ガイドライン委員会 EBM 作成班. ロイコトリエン受容体拮抗薬(プラニルカスト)の Exercise-Induced Bronchospasms (EIB)に対する抑制効果の多施設二重盲検交叉比較試験による検討. *日本小児アレルギー* 2003; 17: 210-6.
- 25) Manning PJ, Watson RM, Margolskee DJ, Williams VC, Schwartz JI, O'Byrne PM. Inhibition of exercise-induced bronchoconstriction by MK-571, a potent leukotrien D4-receptor antagonist. *N Engl J Med* 1990; 323: 1736-9.
- 26) Dessanges JF, Préfaut C, Taytard A, Matran R, Naya I, Compagnon A, Dinh-Xuan AT. The effect of zafilukast on repetitive exercise-induced bronchoconstriction: The possible role of leukotriens in exercise-induced refractoriens. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 1155-61.
- 27) Leff JA, Busse WW, Pearlman D, Bronsky EA, Kemp J, Hendeles L, Dockhorn R, Kundu S, Zhang J, Seidenberg BC, Reiss TF. Montelukast, a leukotrien-receptor antagonist, for the treatment of

- mild asthma and exercise-induced bronchoconstriction. *New Engl J Med* 1998; 339: 147-52.
- 28) Villaran C, O'Neill SJ, Helbling A, van Noord JA, Lee TH, Chuchalin AG, Langley SJ, Gunawardena KA, Suskovic S, Laurenzi M, Jasan J, Menten J, Leff JA. Montelukast versus salmeterol in patients with asthma and exercise-induced bronchoconstriction. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 547-53.
- 29) 大城玲子, 服部知洋, 馬島 徹, 橋本奈緒美, 山口賢二, 平沼久人, 野村奈津子, 赤星俊樹, 赤柴恒人, 橋本 修. 運動誘発喘息 (EIA) に対する montelukast 単回投与の効果の検討. *日呼会誌* 2008; 46: 143.
- 30) Nagakura T, Shichijo K, Masaki T, Sugimoto H, Maekawa K. The inhibition of urinary excretion of thromboxane metabolites and exercise-induced asthma by thromboxane inhibitor (OKY-046). *Jikeikai Med J* 1995; 42: 59-65.
- 31) 勝呂 元, 馬島 徹, 橋本奈緒美, 市村浩一, 梅沢好弘, 堀江孝至. 運動誘発喘息に対する pranlukast hydrate と seratrodist の効果の検討. *呼吸* 1998; 17: S87.
- 32) 勝呂 元, 馬島 徹, 梅沢好弘, 市村浩一, 岩田俊夫, 橋本奈緒美, 堀江孝至. 運動誘発喘息に対する seratrodist の効果. *アレルギー* 1997; 46: 824.
- 33) Magnussen H, Boerger S, Templin K, Baunack AR. Effects of thromboxane-receptor antagonist, BAYu3405, on prostaglandine D2- and exercise-induced bronchoconstriction. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 1119-26.
- 34) Lehnigk B, Rabe KF, Dent G, Herst RS, Carpentier PJ, Magnussen H. Effects of a 5-lipoxygenase inhibitor, ABT-761, on exercise-induced bronchoconstriction and urinary LTE4 in asthmatic patients. *Eur Respir J* 1998; 11: 617-23.
- 35) Ichinose M, Miura M, Yamauchi H, Kageyama N, Tomaki M, Oyake T, Ohuchi Y, Hida W, Miki H, Tamura G, Shirato K. A neurokinin 1-receptor antagonist improves exercise-induced airway narrowing in asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 936-41.

- 36) Wilkens JH, Wilkens H, Uffmann J, Bövers J, Fabel H, Frölich JC. Effects of a PAF-antagonist (BN 52063) on bronchoconstriction and platelet activation during exercise induced asthma. *Br J Clin Pharmacol* 1990; 29: 85-91.
- 37) 馬島 徹, 堀江孝至. 気管支喘息診療の最近の進歩 特殊型喘息の治療 運動誘発性喘息の病態と治療. *内科* 1998; 81: 502-5.
- 38) Robinson NP, Kyle H, Webber SE, Widdicombe JG. Electrolyte and other chemical concentration in the airway surface liquid and mucus secretion of the ferret trachea. *J Appl Physiol* 1989; 66: 2129-35.
- 39) 馬島 徹. II. 基礎医学 6. イオンチャンネル. 工藤翔二, 土屋了介, 金沢 実, 大田 健, 編集. *Annual Review 呼吸器* 1995. 東京: 中外医学社; 1995. p. 95-102.
- 40) Chao AC, Widdicombe JH, Verkman AS. Chloride conductive and cotransport mechanisms in cultures of canine tracheal epithelial cells measured by an entrapped fluorescent indicator. *J Membr Biol* 1990; 113: 193-202.
- 41) Schultz BD, Singh AK, Devor DC, Bridges RJ. Pharmacology of CFTR chloride channel activity. *Physiol Rev* 1999; 79: 109-44.
- 42) Anderson MP, Welsh MJ. Calcium and cAMP activate different chloride channels in the apical membrane of normal and cystic fibrosis epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 6003-7.
- 43) Endo Y, Isono K, Kondo M, Tamaoki J, Nagai A. Interleukin-9 and Interleukin-13 augment UTP-induced Cl ion transport via hCLCA1 expression in a human bronchial epithelial cell line. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 219-24.
- 44) Boucher RC, Stutts MJ, Knowless MR, Cantley L, Gatzky JT. Na<sup>+</sup> transport in cystic fibrosis respiratory epithelia. Abnormal basal rate and response to adenylate cyclase activation. *J Clin Invest* 1986; 78: 1245-52.
- 45) Widdicombe JH, Nathanson IT, Highland E. Effects of "loop" diuretics on ion transport by dog tracheal epithelium. *Am J Physiol* 1983; 245: C388-96.
- 46) 玉置 淳. 第三章 呼吸器分子医学のトピックス 3 気道上皮細

- 胞のイオンチャネル. 貫和敏博, 編集. 臨床医のための実験医学シリーズ 11 呼吸器系の分子医学 基礎から臨床への *up-to-date* な分子医学. 東京: 羊土社; 1993. p. 153-65.
- 47) Welsh MJ. Electrolyte transport by airway epithelia. *Physiol Rev* 1987; 67: 1143-84.
- 48) Riordan JR, Rommens JM, Kerem BS, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245: 1066-73.
- 49) Widdicombe JH. Use of cultured airway epithelial cells in studies of ion transport. *Am J Physiol* 1990; 258: L13-18.
- 50) 馬島 徹. フォルムアルデヒドの気道上皮イオントランスポートに及ぼす影響. 平成 12 年度厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)「シックハウス症候群の病態解明、診断治療法に関する研究」分担研究報告書. 2000. p. 435-53.
- 51) Nadel JA, Widdicombe JH, Peatfield AC. Regulation of airway secretions, ion transport, and water movement. In: Fishman AP, editor. *Handbook of Physiology, Section 3*. Bethesda, Maryland: American Physiological Society; 1985. p. 419-45.
- 52) 玉置 淳, 千代谷厚, 金野公郎. 気道分泌. *アレルギー* 1991; 40: 1439-46.
- 53) 玉置 淳. 気道分泌とイオントランスポート. *肺と心* 1989; 36: 195-203.
- 54) Hebestreit A, Kersting U, Hebestreit H. Hypertonic saline inhibits luminal sodium channels in respiratory epithelium. *Eur J Appl Physiol* 2007; 100: 177-83.
- 55) Anderson SD, du Toit JI, Rodwell LT, Jenkins CR. Acute effect of sodium cromoglycate on airway narrowing induced by 4.5 percent saline aerosol. Outcome before and during treatment with aerosol corticosteroids in patients with asthma. *Chest* 1994; 105: 673-80.
- 56) 服部知洋, 馬島 徹, 堀江孝至. 卵白アルブミン感作モルモットにおけるテルブタリンの気道上皮イオントランスポートへの影響. *日気食会報* 2003; 54: 15-20.
- 57) 市村浩一, 馬島 徹, 堀江孝至. ウサギ気道上皮細胞イオント

- ランスポートに対するテオフィリンの影響. 日呼会誌 1999; 37: 880-5.
- 58) Kondo M, Finkbeiner WE, Widdicombe JH. Changes in permeability of dog tracheal epithelium in response to hydrostatic pressure. *Am J Physiol* 1992; 262: L176-82.
- 59) 森本理香, 小山信一郎, 田中昭子, 堀江孝至. 感作ウサギにおける高張食塩水吸入誘発気道収縮の機序の検討. 日胸疾会誌 1996; 34: 545-51.
- 60) Jackson DM, Pollard CE, Roberts SM. The effect of nedocromil sodium on the isolated rabbit vagus nerve. *Eur J Pharmacol* 1992; 221: 175-7.
- 61) Brannan JD, Koskela H, Anderson SD, Chew N. Responsiveness to mannitol in asthmatic subjects with exercise- and hyperventilation-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1120-6.
- 62) Umeno E, McDonald DM, Nadel JA. Hypertonic saline increases vascular permeability in the rat trachea by producing neurogenic inflammation. *J Clin Invest* 1990; 85: 1905-8.
- 63) Pisarri TE, Jonzon A, Coleridge HM, Coleridge JC. Vagal afferent and reflex responses to changes in surface osmolarity in lower airways of dogs. *J Appl Physiol* 1992; 73: 2305-13.
- 64) 角田和彦, 北條祥子, 吉野 博, 石川 哲. 【環境医学と神経眼科】アレルギー児が思春期に受ける化学物質の影響. 神経眼科 2002; 19: 176-87.
- 65) Meggs WJ. Mechanisms of allergy and chemical sensitivity. *Toxicol Ind Health* 1999; 15: 331-8.
- 66) Tomaki M, Ichinose M, Miura M, Hirayama Y, Yamauchi H, Nakajima N, Shirato K. Elevated substance P content in induced sputum from patients with asthma and patients with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 613-7.
- 67) Kulka M1, Sheen CH, Tancowny BP, Grammer LC, Schleimer RP. Neuropeptides activate human mast cell degranulation and chemokine production. *Immunology* 2008; 123: 398-410.

- 68) Fahy JV, Wong HH, Geppetti P, Reis JM, Harris SC, Maclean DB, Nadel JA, Boushey HA. Effect of an NK1 receptor antagonist (CP-99,994) on hypertonic saline-induced bronchoconstriction and cough in male asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 879-84.
- 69) 玉置 淳. 気道分泌の調節機構と病態生理. *日本呼吸器学会雑誌* 1998; 36: 217-23.
- 70) 服部知洋, 馬島 徹, 橋本 修. 浸透圧変化によるモルモット気道上皮イオントランスポートの反応性の検討. *アレルギー* 2010; 59: 974-83.

## 9 図表

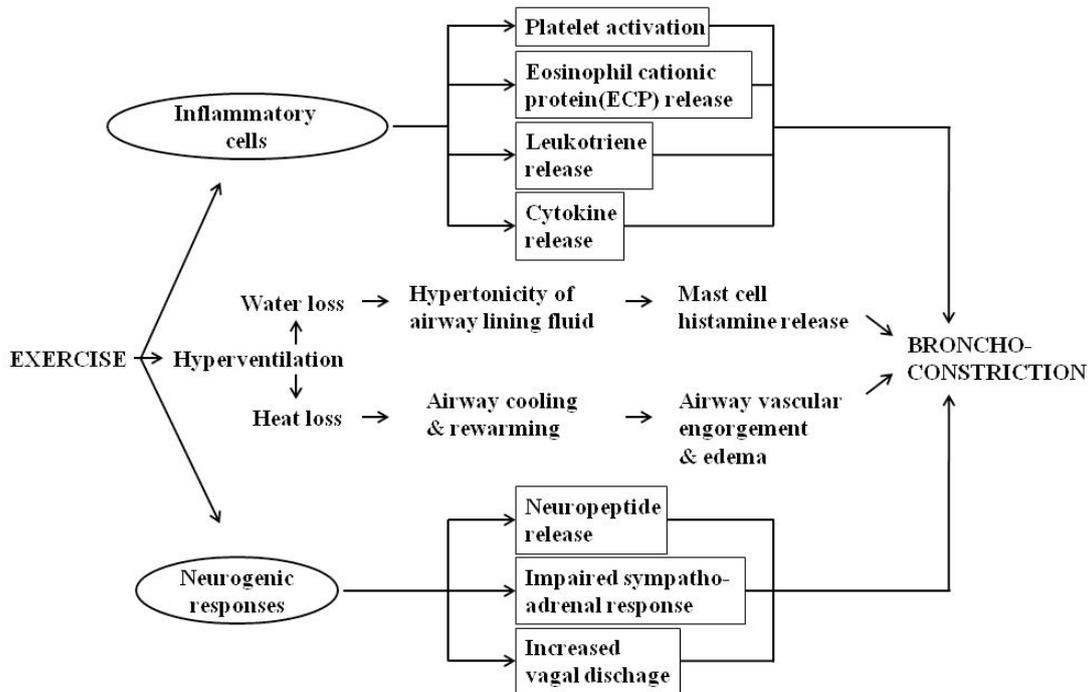


図 1. EIA の病態

Exercise-induced asthma (EIA) の病態について、図 1. に示した。EIA の病態はまだ不明な点が多い。運動に伴う換気増大によって気道収縮が起きることは明らかであり、気道の **water loss** (水分喪失) と **heat loss** (熱喪失) が引き金となっていると考えられている。Anderson は、過換気による気道粘膜からの水分喪失は気道液の浸透圧の上昇を来たし、その刺激による局所の化学伝達物質の遊離が気道平滑筋収縮を起こすと述べている。(文献 13) を引用改変)

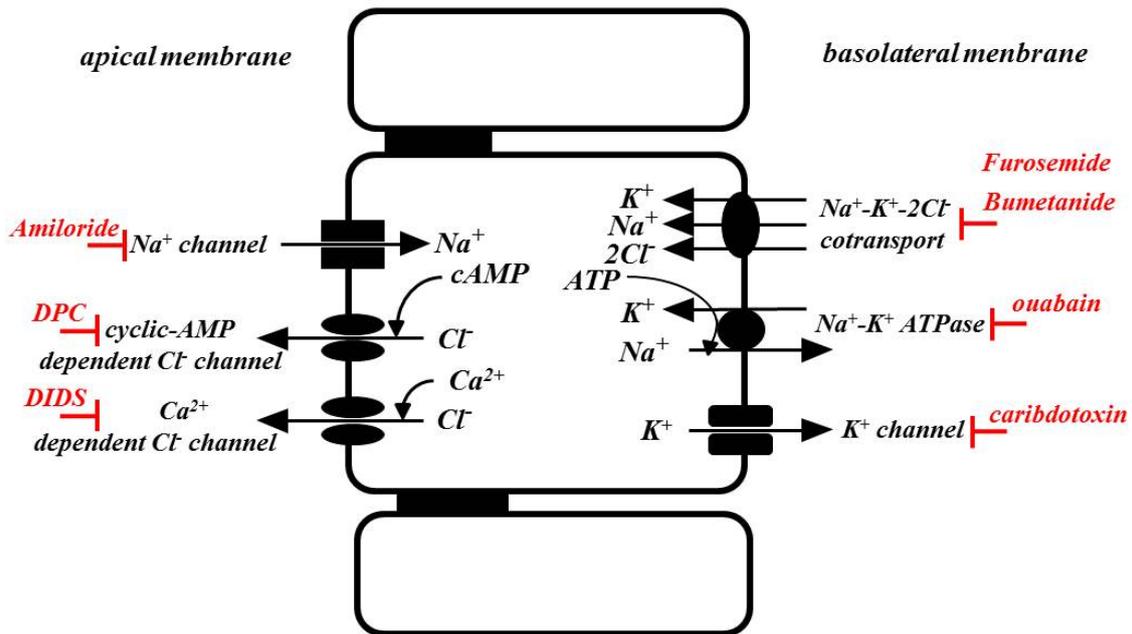


図 2. 気道上皮細胞におけるイオントランスポートと阻害薬

気道上皮細胞の粘膜側に存在する  $\text{Cl}^-$  チャンネルは、cyclic-AMP dependent  $\text{Cl}^-$  チャンネルと  $\text{Ca}^{2+}$  dependent  $\text{Cl}^-$  チャンネルの 2 種類がある。また、 $\text{Cl}^-$  チャンネルの阻害薬としては、diphenylamine-2-carboxylate (DPC)、4,4'-diisothiocyanatostilbe-2,2'-disulfonic acid (DIDS)、Furosemide などがある。いずれの阻害薬も特異性、親和性は低い、DPC は cyclic-AMP dependent  $\text{Cl}^-$  channel blocker<sup>40)41)</sup>、DIDS は  $\text{Ca}^{2+}$  dependent  $\text{Cl}^-$  channel blocker<sup>42)43)</sup> として用いられることが多い。また、 $\text{Na}^+$  channel の blocker には amiloride<sup>44)</sup>、漿膜面の  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  ATPase の blocker には ouabain<sup>45)</sup>、 $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ - $2\text{Cl}^-$  cotransport の blocker には Furosemide<sup>45)</sup>、Bumetanide<sup>45)</sup>、 $\text{K}^+$  チャンネルの blocker には caribdotoxin<sup>46)</sup> が用いられ、blocker においては文献的に上記のような使い方が一般的である。これらのイオントランスポートの働きによって  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  が移動し、電気化学的勾配 (electrochemical potential gradient) が生じ、水分の移動が生じる<sup>47)</sup>。中枢気道における細胞内の  $\text{Na}^+$  濃度は気道液のそれに比べ低いため、管腔側粘膜面の  $\text{Na}^+$  チャンネルを通じて受動的に吸収される。細胞内に入った  $\text{Na}^+$  イオンは漿膜面の  $\text{Na}^+$  ポンプ ( $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  ATPase) から漿膜側へ排出される。この時同時に  $\text{K}^+$  イオンは細胞内に流入する。ここで生じた電気化学勾配により、漿膜面の  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ - $2\text{Cl}^-$  共輸送体 (cotransport) を介して  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  各イオンは細胞内に流入する。細胞内に入った  $\text{Na}^+$  イオンは  $\text{Na}^+$  ポンプによって、 $\text{K}^+$  イオンは漿膜面の  $\text{K}^+$  チャンネルから排出される。一方、細胞内の  $\text{Cl}^-$  イオンは管腔側粘膜面の  $\text{Cl}^-$  チャンネルによって粘膜側に排出される。 $\text{Na}^+$  と  $\text{Cl}^-$  によって作りだされる電気化学勾配によって水分移動が生じる<sup>39)</sup>。(文献 39) を引用改変)

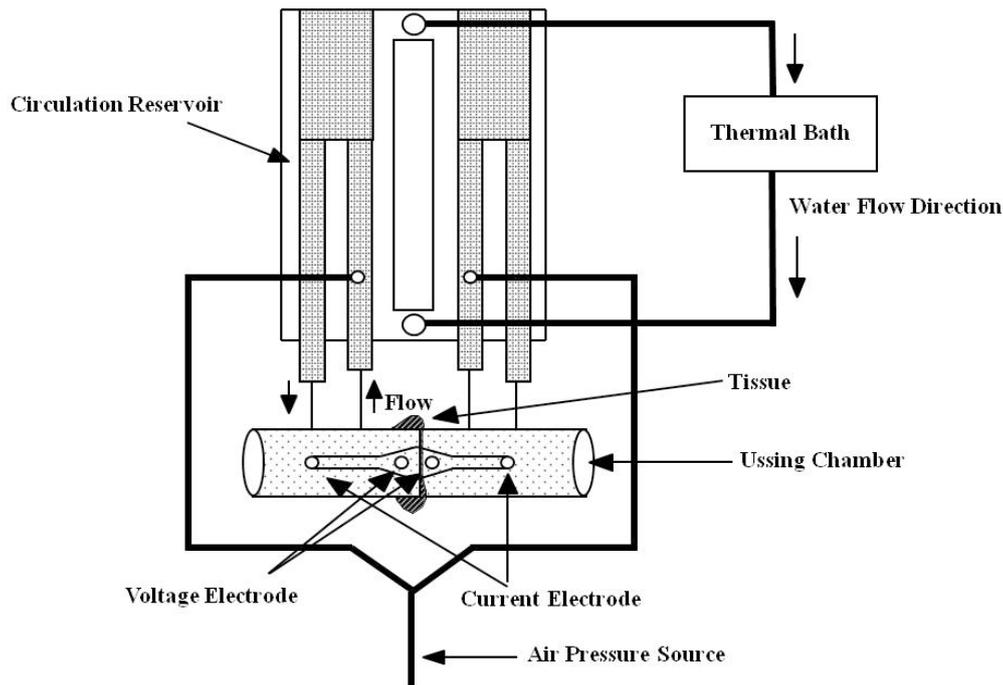


図 3. Ussing Chamber の構成図

気道上皮イオントランスポートの測定には、Ussing chamber (World Precision Instruments 社製, USA) と短絡電流測定装置を用いた膜電位固定法 (Voltage clamp 法) が用いられる。図 3. に Ussing chamber の構成図を示す。摘出したモルモット気管を直ちに膜様部で縦切開し、氷冷した Krebs-Henseleit (K-H) 溶液 (組成:  $\text{Na}^+$  143.9,  $\text{K}^+$  5.6,  $\text{Ca}^{2+}$  1.9,  $\text{Mg}^{2+}$  1.2,  $\text{Cl}^-$  117.6,  $\text{HCO}_3^-$  25.0,  $\text{acetate}^-$  5.6,  $\text{gluconate}^-$  3.8,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  1.3,  $\text{SO}_4^{2-}$  1.2, glucose 5.6 (mM),  $37^\circ\text{C}$ , pH 7.4) で血液成分その他を除去した後に ussing chamber にマウントし、粘膜側と漿膜側を 95% $\text{O}_2$ , 5% $\text{CO}_2$  で吹送平衡させた K-H 溶液を粘膜側と漿膜側それぞれ別々に還流させ、chamber 装着後 30 分間静置し、base line の short circuit current (Isc) が安定した後に、Isc が  $5\text{-}15\mu\text{A}/\text{cm}^2$  の気管で以下の実験を行った。短絡電流測定には Short Circuit Current Amplifier, Thermal Array Recorder (日本光電社製短絡電流測定装置, CEZ-9100, 東京, 日本) を用いた。chamber に 3M の KCl agar bridge を挿入し組織間の電位差 (potential difference: PD) を open circuit で測定する。また、0.9%NaCl agar bridge を用いて両 chamber 間に 10, 20  $\mu\text{A}$  の puls current を 1 秒間流し、その電位変化からオームの法則 ( $V = R I$ ) により組織の抵抗 (conductance:  $G = 1 / R$ ) を求める。また、短絡電流 (Isc) は Voltage clamp 法により経時的に測定した。Isc とは PD を 0mV、すなわち電氣的に電氣化学的濃度勾配 (electro-chemical potential gradient) を 0 にすることでイオンの受動輸送を除去した際に流れる電流量を意味し、これは net の能動イオン輸送の量を反映するものとされている。(文献 50) を引用改変)

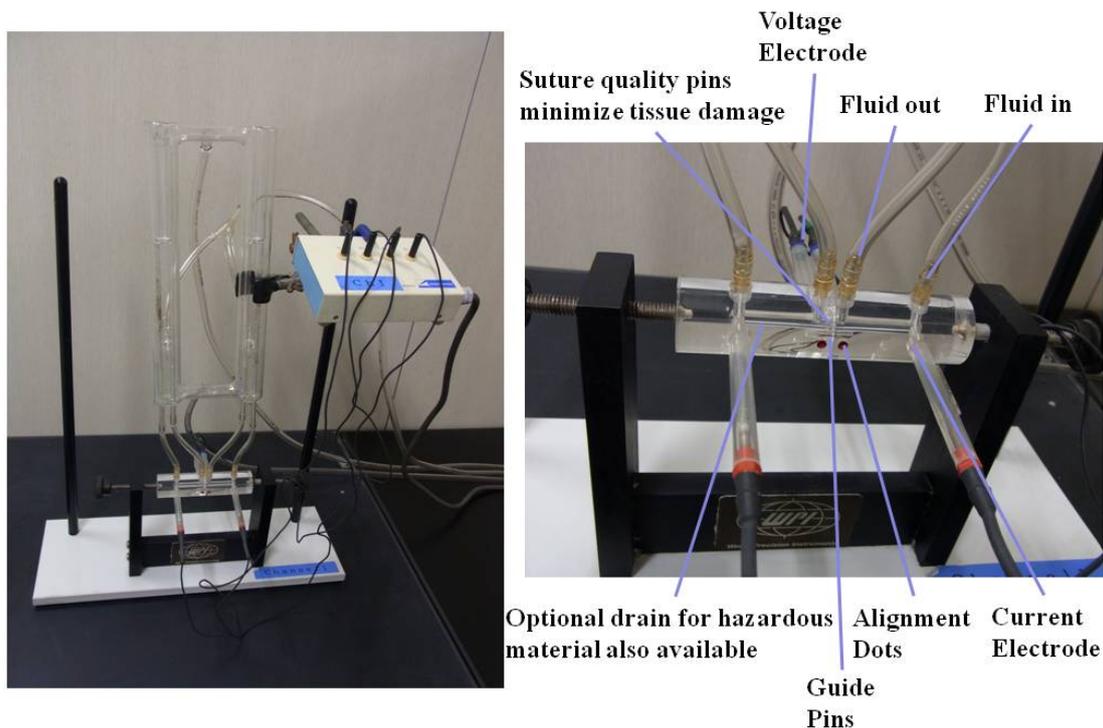


図 4. Ussing Chamber の実物写真

気道上皮イオントランスポートの測定には、Ussing chamber (World Precision Instruments 社製, USA) と短絡電流測定装置を用いた膜電位固定法 (Voltage clamp 法) が用いられる。図 4. に実物写真を示す。摘出したモルモット気管を直ちに膜様部で縦切開し、氷冷した Krebs-Henseleit (K-H) 溶液 (組成:  $\text{Na}^+$  143.9,  $\text{K}^+$  5.6,  $\text{Ca}^{2+}$  1.9,  $\text{Mg}^{2+}$  1.2,  $\text{Cl}^-$  117.6,  $\text{HCO}_3^-$  25.0,  $\text{acetate}^-$  5.6,  $\text{gluconate}^-$  3.8,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  1.3,  $\text{SO}_4^{2-}$  1.2, glucose 5.6 (mM),  $37^\circ\text{C}$ , pH 7.4) で血液成分その他を除去した後に ussing chamber にマウントし、粘膜側と漿膜側を 95% $\text{O}_2$ , 5% $\text{CO}_2$  で吹送平衡させた K-H 溶液を粘膜側と漿膜側それぞれ別々に還流させ、chamber 装着後 30 分間静置し、base line の short circuit current (Isc) が安定した後に、Isc が  $5\text{-}15\mu\text{A}/\text{cm}^2$  の気管で以下の実験を行った。短絡電流測定には Short Circuit Current Amplifier, Thermal Array Recorder (日本光電社製短絡電流測定装置, CEZ-9100, 東京, 日本) を用いた。chamber に 3M の KCl agar bridge を挿入し組織間の電位差 (potential difference: PD) を open circuit で測定する。また、0.9%NaCl agar bridge を用いて両 chamber 間に 10, 20  $\mu\text{A}$  の puls current を 1 秒間流し、その電位変化からオームの法則 ( $V = R I$ ) により組織の抵抗 (conductance:  $G = 1 / R$ ) を求める。また、短絡電流 (Isc) は Voltage clamp 法により経時的に測定した。Isc とは PD を 0mV、すなわち電氣的に電気化学的濃度勾配 (electro-chemical potential gradient) を 0 にすることでイオンの受動輸送を除去した際に流れる電流量を意味し、これは net の能動イオン輸送の量を反映するものとされている。(筆者撮影)

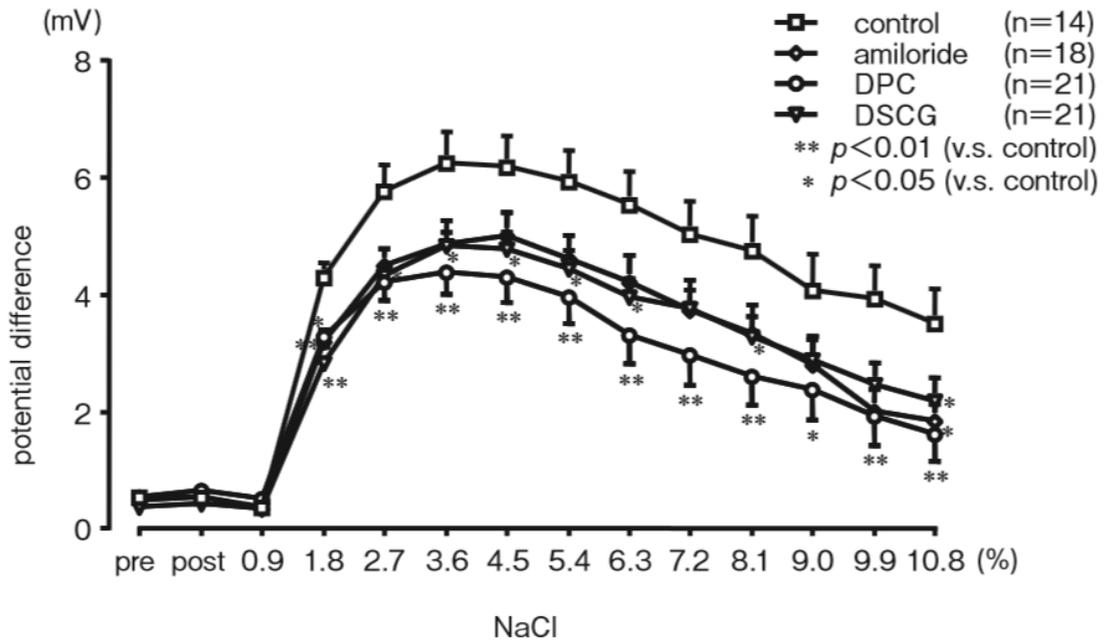
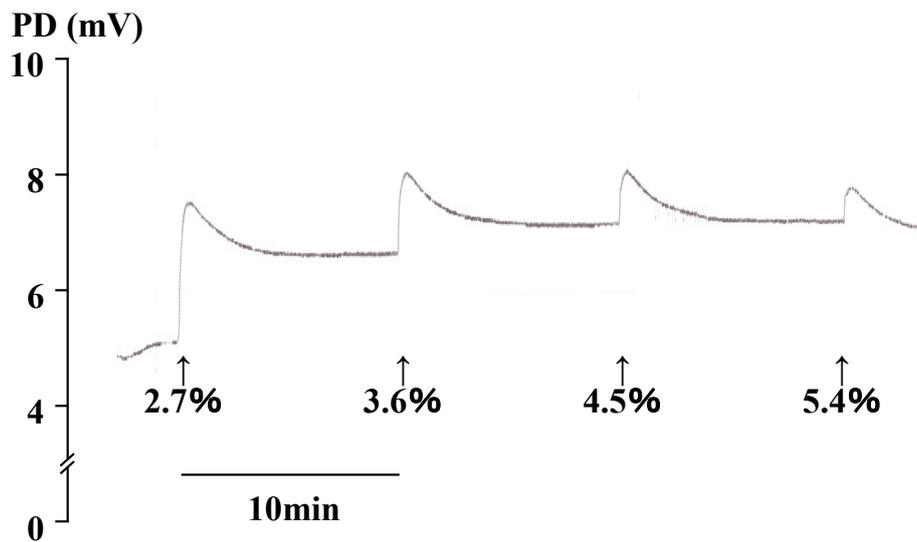
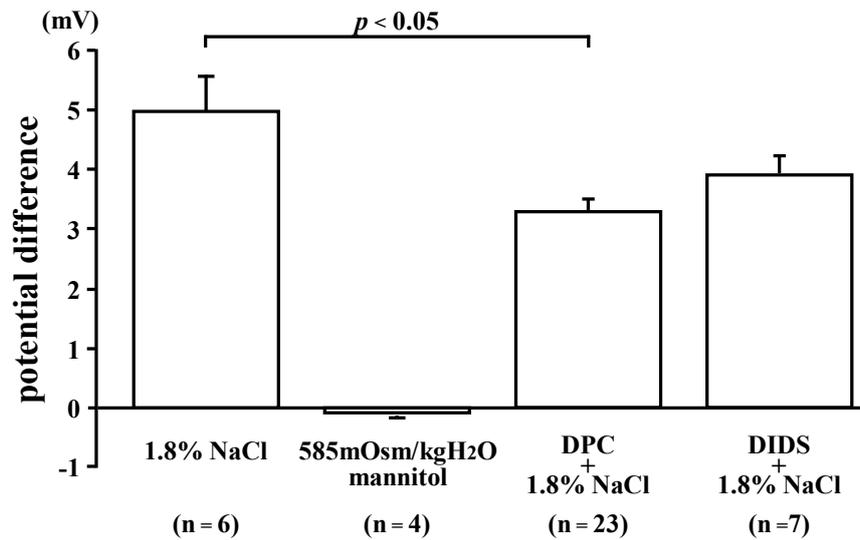


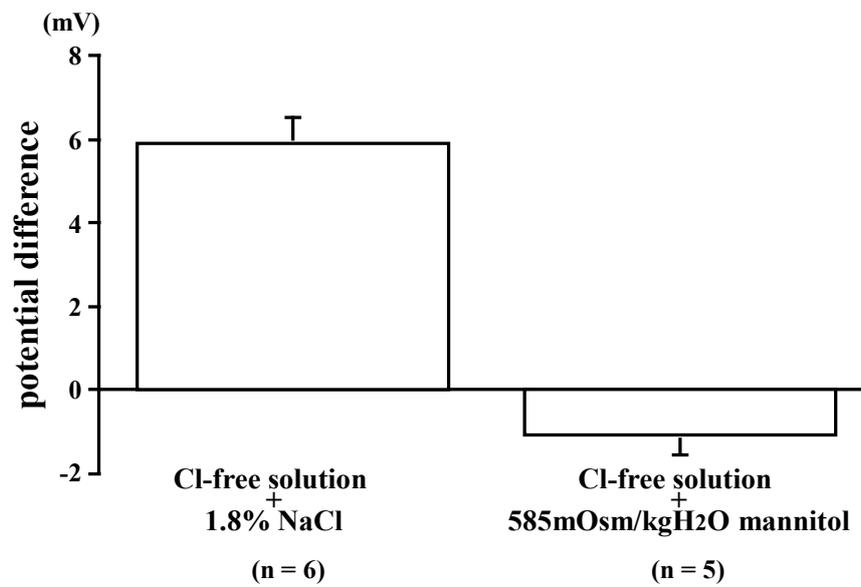
Fig 5. Effect on the PD of amiloride, DPC and DSCG after 0.9% isotonic saline solution-10.8% hypertonic saline solutions. In the control, potential difference (PD) increased until 3.6% hypertonic saline solution and decreased from 4.5% hypertonic saline solution onward after challenge with 0.9% isotonic saline solution-10.8% hypertonic saline solutions. Amiloride, diphenylamine-2-carboxylate (DPC) and disodium cromoglycate (DSCG) significantly inhibited the increment of PD due to 1.8% hypertonic saline solution ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ , and  $p < 0.01$ , respectively). (ANOVA) ANOVA: analysis of variance (Quoted and modified from reference 70.)



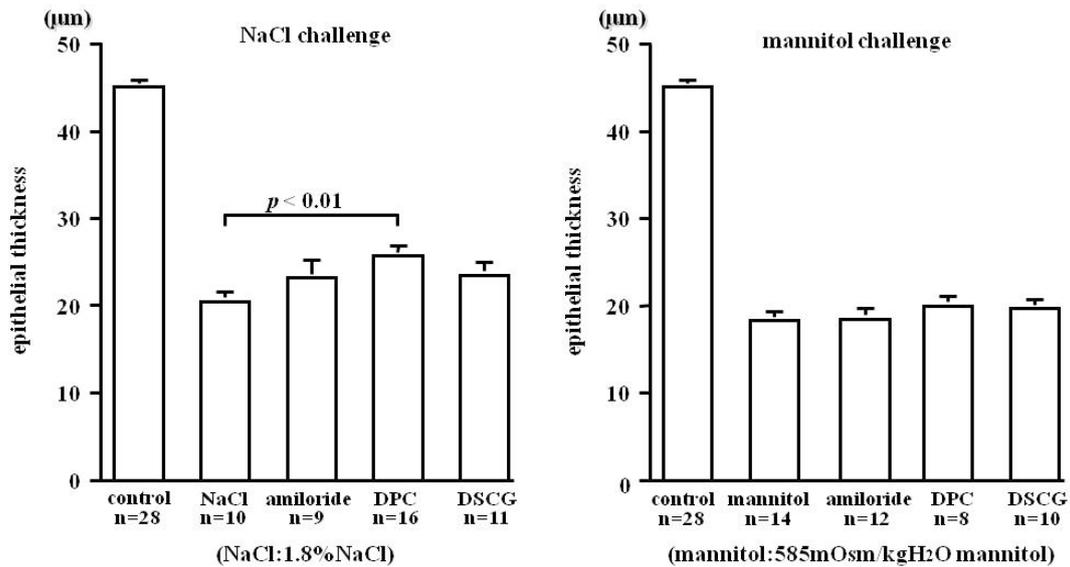
⊠ 6. Representative tracing of the PD after 0.9% isotonic saline solution-10.8% hypertonic saline solutions. 0.9% isotonic saline solution-10.8% hypertonic saline solutions were applied to the mucosa in concentration order. Peak was maximum in 3.6%, afterward wave range decreased dependent on rising NaCl concentration. PD: potential difference



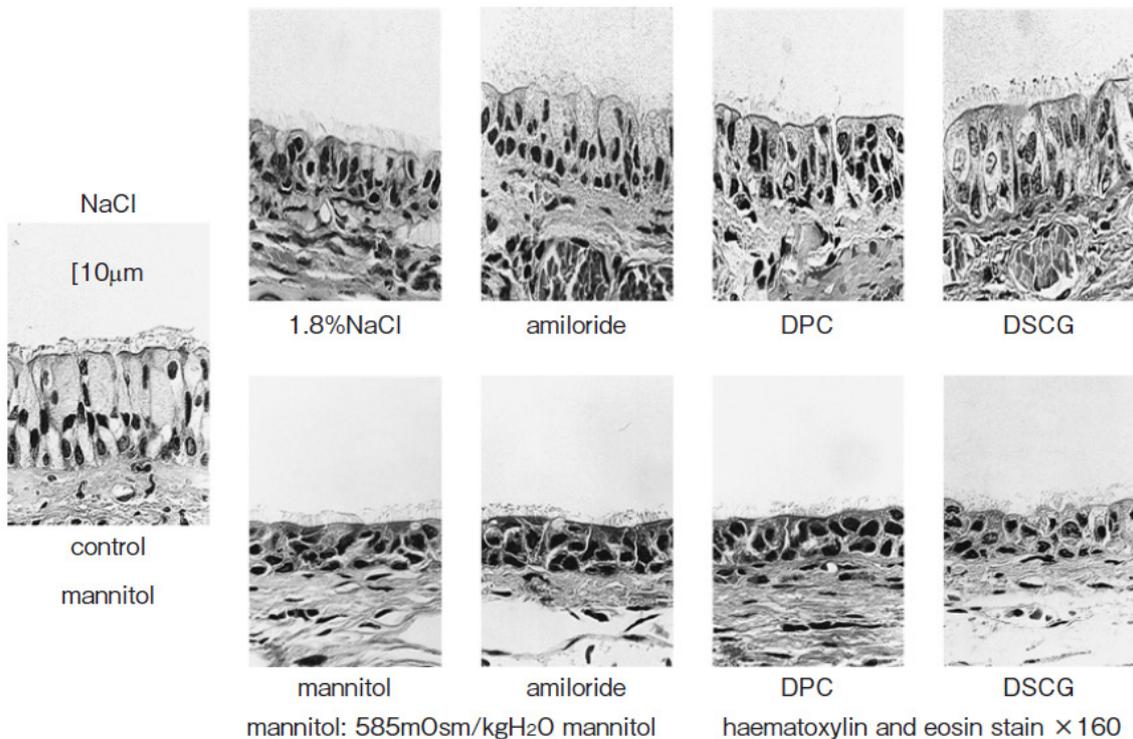
⊠ 7. Effect on the PD of 1.8% hypertonic saline solution and 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol challenge and effect of pretreatment with DPC and DIDS before 1.8% hypertonic saline solution challenge. Potential difference (PD) was clearly increased after 1.8% hypertonic saline solution challenge, but was not increased by 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol challenge. The increment of PD was inhibited significantly by diphenylamine-2-carboxylate (DPC) ( $p < 0.05$ ), but was not inhibited by 4,4'-diisothiocyanatostilbe-2,2'-disulfonic acid (DIDS) after 1.8% hypertonic saline solution challenge. (unpaired Student's t-test)



⊠ 8. Effect on the PD of 1.8% hypertonic saline solution and 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol in Cl-free medium. Potential difference (PD) was clearly increased by 1.8% hypertonic saline solution challenge, but was not increased by 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol challenge in Cl-free medium.



⊗ 9. Effect on airway epithelial thickness of amiloride, DPC, or DSCG pretreatment before 1.8% hypertonic saline solution or 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol challenge. Airway epithelial cells showed significant shrinkage after 1.8% hypertonic saline solution or 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol challenge. The change of airway epithelial cell thickness was only suppressed significantly by diphenylamine-2-carboxylate (DPC) ( $p < 0.01$ ) after 1.8% hypertonic saline solution challenge, but was not suppressed after 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol challenge. (unpaired Student's t-test) DSCG: disodium cromoglycate



**Fig 10. Photographs of airway epithelial thickness after pretreatment by amiloride, DPC, or DSCG and challenge with 1.8% hypertonic saline solution or 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol. Airway epithelial cells showed significant shrinkage with 1.8% hypertonic saline solution and 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol challenge. There was not mark difference between 1.8% hypertonic saline solution and 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol. The shrinkage of airway epithelial cells was suppressed by amiloride, diphenylamine-2-carboxylate (DPC), and disodium cromoglycate (DSCG) after 1.8% hypertonic saline solution challenge, but was not suppressed by these drugs after 585 mOsm/kg H<sub>2</sub>O mannitol challenge. (Quoted and modified from reference 70.)**

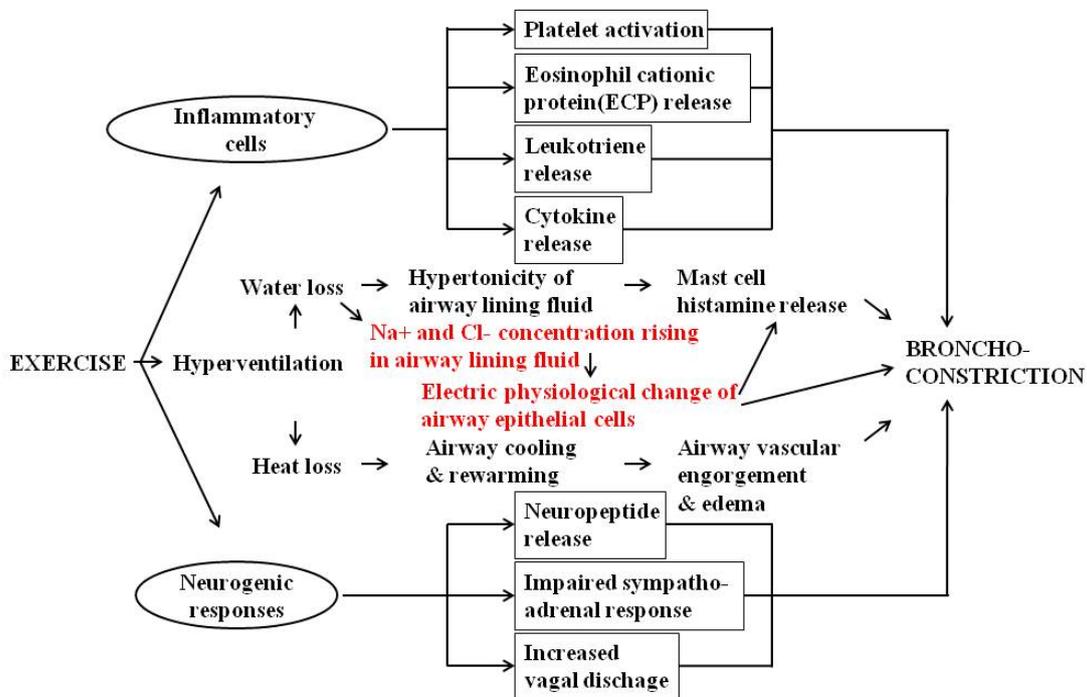


図 11. EIA の提案病態

今回の検討で得られた知見を、図 1. に追加し図 11. に示した。water loss の結果生じる単純な浸透圧の上昇だけでなく、気道液中の Cl<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup>イオン濃度の上昇を伴うことが重要であると考えられた。また、Cl<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup>イオン濃度の上昇によりイオントランスポートに伴う電気生理学的変化、すなわち **Potential difference (PD)** の変化が肥満細胞からメディエーター分泌を引き起こしたり、気道収縮に直接関与していることが考えられた。さらに、Cl<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup>イオン濃度の上昇によりイオントランスポート、すなわち **cyclic-AMP dependent Cl<sup>-</sup>チャンネル**が関与し電気生理学的変化、つまり **PD** の変化が引き起こされていると推測された。EIA: exercise-induced asthma (図 1. を引用改変)

## 10 研究業績

- ① 原著論文            8 (単 0 / 共 8)
- ② 症例報告           16 (単 0 / 共 16)
- ③ 総     説            19 (単 0 / 共 19)
- ④ 著     書            1 (単 0 / 共 1)
- ⑤ その他             なし

以   上

## 原著論文

- 1) 勝呂 元, 馬島 徹, 服部知洋, 市村浩一, 橋本奈緒美, 堀江孝至 : Pramlukast Hydrate 2 週間投与による運動誘発喘息抑制効果の検討. アレルギー 49 (8) : 646-652, 2000.
- 2) 高橋典明, 上原暢子, 服部知洋, 阿久澤浩司, 小林朋子, 松本建志, 大森千春, 古屋佳昭, 赤柴恒人, 堀江孝至 : 【肺結核と気管支学】肺結核診断における気管支鏡検査の有用性 特に肺生検併用の意義について. 気管支学 23 (4) : 332-335, 2001.
- 3) 服部知洋, 馬島 徹, 堀江孝至 : 卵白アルブミン感作モルモットにおけるテルブタリンの気道上皮イオントランスポートへの影響. 日本気管食道科学会会報 54 (1) : 15-20, 2003.
- 4) 津田香織, 馬島 徹, 伊藤玲子, 服部知洋, 赤柴恒人 : モルモットの過換気誘発気道収縮モデルにおけるタキキニンの関与. 日大医学雑誌 67 (6) : 339-345, 2008.
- 5) Akahoshi T, Akashiba T, Kawahara S, Uematsu A, Nagaoka K, Kiyofuji K, Okamoto N, Hattori T, Takahashi N, Hashimoto S : Predicting optimal continuous positive airway pressure in Japanese patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Respirology* 14 (2) : 245-250, 2009.
- 6) Akahoshi T, Uematsu A, Akashiba T, Nagaoka K, Kiyofuji K, Kawahara S, Hattori T, Kaneita Y, Yoshizawa T, Takahashi N, Uchiyama M, Hashimoto S : Obstructive sleep apnea is associated with risk factors comprising the metabolic syndrome. *Respirology* 15 (7) : 1122-1126, 2010.
- 7) 服部知洋, 馬島 徹, 橋本 修 : 浸透圧変化によるモルモット気道上皮イオントランスポートの反応性の検討. アレルギー

59 (8) : 974-983, 2010.

- 8) Ito R, Gon Y, Nunomura S, Atsuta R, Harada N, Hattori T, Maruoka S, Okayama Y, Ra C, Hashimoto S : Development of assay for determining free IgE levels in serum from patients treated with omalizumab. Allergol Int 63 (1) : 37-47, 2014.

## 症例報告

- 1) 服部知洋, 和泉 徹, 和泉貴子, 押川直廣, 小島利明, 本江純子, 吉田省造, 雅楽川聡, 徐 成夫, 木下造作, 朱 永真, 林 成之 : 偶発性低体温症の検討. 日本救急医学会関東地方会誌 17 (2) : 648-649, 1996.
- 2) 加藤秀継, 陳 俊雄, 服部知洋 : HHM (Humoral Hypercalcemia of Malignancy) を呈した PTHrP (Parathyroid Hormone-related Peptide) 産生肺小細胞癌の 1 例. 日本気管食道科学会会報 49 (6) : 517-521, 1998.
- 3) 市村浩一, 細川芳文, 加藤秀継, 服部知洋, 安部幹雄, 井上昌彦, 小泉 昭, 斎木 実, 澤田滋正, 堀江孝至 : Swyer-James 症候群と思われる 1 例. 呼吸 17 (9) : 1035-1039, 1998.
- 4) 服部知洋, 高橋典明, 児浦利哉, 花田清美, 青木政紀, 石塚 光, 古屋佳昭, 赤柴恒人, 堀江孝至 : 縦隔原発絨毛癌の 1 剖検例. 日本胸部臨床 59 (5) : 359-363, 2000.
- 5) 服部知洋, 上原暢子, 赤嶺直樹 : Castleman 病の 1 例. 銚子市立総合病院医報 15 (1) : 47-52, 2001.
- 6) 金丸峯雄, 上野川久美, 古市祥子, 服部知洋 : 多発性骨髄腫の治療中に骨髄異形成症候群を合併した一例. 日大医学雑誌 64

- (5) : 278-282, 2005.
- 7) Hattori T, Matsukawa Y, Takei M, Yamaguchi K, Yamazaki T, Sawada U, Swada S, Horie T, Ayusawa M, Noto N, Harada K : Adult Kawasaki disease unrelated to epstein-barr virus and group A Streptococcus. Internal Medicine 44 (11) : 1182-1184, 2005.
- 8) 服部知洋, 小林朋子, 高橋典明, 辻野一郎, 大城玲子, 津田香織, 赤星俊樹, 馬島 徹, 橋本 修, 赤柴恒人 : 今月の画像 交通外傷を契機に発見された特発性肺胞蛋白症の 1 例. 呼吸 25 (5) : 530-531, 2006.
- 9) 亀井 聡, 三木健司, 塩田宏嗣, 小川克彦, 服部知洋, 大島秀規, 本間 琢, 生沼利倫 : 胸部 X-p 異常影を認め、不随意運動・四肢末梢優位の感覚障害・瞳孔異常を呈した 78 歳男性例. 日大医学雑誌 66 (4) : 355-364, 2007.
- 10) 小林朋子, 山下京子, 高橋典明, 服部知洋, 古市基彦, 上野川久美, 竹内 仁, 八田善弘, 橋本 修, 山田 勉 : 胸水貯留を伴う肺腫瘍の精査中に血小板減少をきたした 58 歳男性. 日大医学雑誌 66 (6) : 483-489, 2007.
- 11) 関山忠孝, 服部知洋, 平沼久人, 清藤晃司, 浅井康夫, 山口賢二, 伊藤玲子, 橋本奈緒美, 赤星俊樹, 橋本 修 : 咽頭痛と縦隔気腫を認めた初発気管支喘息の 1 例. 日大医学雑誌 68 (4) : 240-243, 2009.
- 12) 橋本 修, 伊藤玲子, 服部知洋, 松本 健, 赤星俊樹 : フルチカゾン/サルメテロール配合剤からブデソニドへの変更によって呼気中 NO が改善した成人気管支喘息の 2 例. Pharma Medica 27 (11) : 89-92, 2009.

- 13) 伊藤玲子, 小林朋子, 古川典子, 関山忠孝, 大木隆史, 平沼久人, 山口賢二, 服部知洋, 林 伸一, 橋本 修 : インフリキシマブ投与中に発症したニューモシスチス肺炎の一例. 日大医学雑誌 69 (1) : 58-61, 2010.
- 14) 関山忠孝, 服部知洋, 伊藤玲子, 山口賢二, 平沼久人, 清藤晃司, 三輪千尋, 吉澤孝之, 赤星俊樹, 馬島 徹, 赤柴恒人, 橋本修 : オロパタジンとステロイド投与が奏功した難治性気管喘息に伴うブロンコレアの 1 症例. 日本胸部臨床 69 (10) : 958-962, 2010.
- 15) 大木隆史, 小林朋子, 畑岡つかさ, 関山忠孝, 中川喜子, 熊澤文雄, 服部知洋, 林 伸一, 高橋典明, 橋本 修: 右下葉浸潤影を呈し ANCA 高値が持続した propylthiouracil による薬剤性肺障害の 1 例. 気管支学 35 (3) : 265-270, 2013.
- 16) 関山忠孝, 勝呂 元, 大木隆史, 中尾裕太, 佐藤良博, 高野友喜, 鈴木真実子, 石渡祐作, 古川典子, 畑岡つかさ, 林健太郎, 伊藝孔明, 岡本直樹, 服部知洋, 高橋典明, 橋本 修 : クラリスロマイシン, エタンブトール, リファンピシンによる化学療法が有効と考えられた *Mycobacterium abscessus* 肺感染症の 1 例. 日本胸部臨床 72 (12) : 1380-1385, 2013.

## 総説

- 1) 赤星俊樹, 川原誠司, 服部知洋, 蜂須賀久喜, 赤柴恒人 : 【睡眠呼吸障害の新展開と展望】睡眠呼吸障害による日中の過度な眠気, QOL 障害と社会問題. 呼吸と循環 52 (4) : 377-383, 2004.
- 2) 赤星俊樹, 服部知洋 : 【内科疾患最新の治療 専門家からのアド

- バイス】呼吸器 慢性呼吸不全. 内科 97 (6) : 960-961, 2006.
- 3) 赤星俊樹, 川原誠司, 植松昭仁, 清藤晃司, 服部知洋, 赤柴恒人 :  
【睡眠時無呼吸症候群】最新治療と予後 睡眠時無呼吸症候群の  
保存的治療とその限界 (1) 呼吸器内科の立場から. JOHNS  
22 (6) : 843-848, 2006.
  - 4) 橋本 修, 服部知洋 : 【アレルギー外来の現状】呼吸器科. 眼  
科 48 (12) : 1789-1799, 2006.
  - 5) 赤星俊樹, 高橋典明, 辻野一郎, 植松昭仁, 川原誠司, 服部知洋,  
赤柴恒人 : 【睡眠時無呼吸症候群】閉塞型睡眠時無呼吸低呼吸  
症候群 (OSAHS) 上気道 (咽頭気道) 閉塞 発症のメカニズム.  
睡眠医療 1 (3) : 19-25, 2007.
  - 6) 服部知洋, 馬島 徹 : 【気管切開の現状 専門医としての取り扱  
い方】呼吸器疾患における気管切開. 日本気管食道科学会会報  
58 (5) : 448-453, 2007.
  - 7) 橋本 修, 大城玲子, 松本 健, 服部知洋, 橋本奈緒美 : 【アレ  
ルギー診療の update】成人気管支喘息. 日大医学雑誌 66 (6) :  
435-440, 2007.
  - 8) 植松昭仁, 赤星俊樹, 伊藝孔明, 永岡賢一, 服部知洋, 高橋典明,  
赤柴恒人, 橋本 修: 【睡眠障害をめぐって】SDB の保存的治療  
Nasal CPAP. 日大医学雑誌 69 (1) : 29-32, 2010.
  - 9) 橋本 修, 伊藤玲子, 服部知洋, 他. 特集 肥満とアレルギー  
Review 1 肥満と喘息. Allergy From the Nose to the Lung 気道のア  
レルギー 9 (2) : 3-10, 2011.
  - 10) 服部知洋, 橋本 修 : Pro/Con 紙上討論 (第 5 回) 運動誘発性喘  
息の予防薬-ロイコトリエン受容体拮抗薬か $\beta_2$  刺激薬か ロイ

- コトリエン受容体拮抗薬の立場から. 喘息 24(2) : 89-99, 2011.
- 11) 服部知洋, 橋本 修 : 特集 : 喘息治療における末梢気道病変に着目した吸入療法 I. 国内における吸入ステロイド薬の種類とその特徴. 吸入療法 4 (1) : 16-21, 2012.
  - 12) 伊藤玲子, 服部知洋, 橋本 修 : 気管支喘息・実地診療の最前線 治療/具体的な診療上の問題点にどう対処するか 吸入ステロイドの併用薬 ロイコトリエン受容体拮抗薬とテオフィリンの用いかた Medical Practice 29 (4) : 649-652, 2012.
  - 13) 服部知洋, 橋本 修 : 特集 先読みフローチャートでわかるイラスト&ビジュアルで呼吸器系救急に強くなる 2.気管支喘息. Emergency Care 25 (7) : 19-25, 2012.
  - 14) 服部知洋, 橋本 修 : 平成 23 年日本大学医学会 秋季学術大会 シンポジウム 「アレルギーの基礎と臨床-最近の進歩」 2. 気管支喘息の病態と治療. 日大医学雑誌 71 (3) : 207-210, 2012.
  - 15) 橋本 修, 服部知洋, 伊藤玲子: COPD 慢性閉塞性肺疾患(慢性気管支炎、肺気腫) 喘息との鑑別のポイント. クリニシアン 59 (9, 10) : 71-77, 2012.
  - 16) 橋本 修, 服部知洋, 清水哲男: COPD 著しく進歩したこれからの実地診療の実際 治療 実地医家のための COPD 治療の実践法 増悪時の早期発見と対処のしかた. Medical Practice 31 (4) : 651-655, 2014.
  - 17) 服部知洋, 権 寧博, 橋本 修 : 特集 気管支喘息診療の進歩 2014 Topics6 合併症. 日本呼吸器学会誌 別冊 3 (2) : 194-200, 2014.

- 18) 服部知洋, 馬島 徹, 赤柴恒人, 橋本 修 : 特集 8 パネルディスカッション 3 : One airway, one disease 呼吸器内科領域から理解する One airway, one disease. 日本気管食道科学会会報 65 (2) : 162-164, 2014.
- 19) 服部知洋, 橋本 修 : 特集 全身成人病としての COPD 胃食道逆流症と消化性潰瘍. 成人病と生活習慣病 44 (9) : 1047-1052, 2014.

## 著書

- 1) 服部知洋, 橋本 修 : IV. アレルギー検査法の実際 2. 呼吸機能検査. 大久保公裕, 編集. イチから知りたいアレルギー診療—領域を超えた総合対策—. 東京: 全日本病院出版会; 2014. p. 49-58.

## 1 1 謝辞

本研究及び学位論文の御指導、御校閲を賜りました国際医療福祉大学臨床医学センター化学療法研究所附属病院呼吸器内科 馬島徹教授、日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野 堀江孝至前教授、日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野 橋本 修教授に深謝致します。

また、本研究にあたり、終始協力して頂いた呼吸器内科学分野研究技術員（現睡眠学分野秘書）清藤（旧姓野村）奈津子さんに深謝致します。