

心肺の内科

イオンチャネルと病態

気道病態とイオンチャネル

東京女子医科大学 第一内科学

クマ オキ ジュン
玉 置 淳

(受付 平成8年10月4日)

Airway Dysfunction and Ion Channel

Jun TAMAOKI

Department of Medicine I, Tokyo Women's Medical College

Increased production of sputum and the difficulty in expectoration are frequently seen in patients with chronic respiratory diseases, but the mechanism of these airway dysfunction remains poorly understood. It has recently been shown that long-term administration of macrolide antibiotics is effective in the treatment of chronic airway infections including diffuse panbronchiolitis, chronic bronchitis and bronchiectasis. Erythromycin causes a remarkable reduction of sputum probably through a mechanism other than its antimicrobial property. To assess whether erythromycin directly inhibits airway secretory responses, we studied bioelectric properties of canine tracheal mucosa under short-circuit condition in vitro and open-circuit condition in vivo. Addition of erythromycin decreased short-circuit current of cultured tracheal epithelial cells and Cl-diffusion potential difference across the tracheal mucosa in a dose-dependent manner. These results suggest that macrolide can inhibit Cl channel opening and subsequent secretion of Cl and water toward the lumen, and that this mechanism may be operating in the efficacy of the drug in patients with airway hypersecretion.

はじめに

マクロライド系抗生物質であるエリスロマイシン(EM)は、従来より急性気管支炎、慢性気管支炎、喘息などに有効であることが知られていたが、1987年、工藤ら¹⁾はびまん性汎細気管支炎(DPB)に対する本薬剤の有用性を報告した。以来、多くの症例の解析が進むにつれ、DPB患者の気道で高頻度に検出される緑膿菌に対してEMは抗菌力を持たないこと、細菌が消失しなくとも病気は治ってゆくこと、EM投与による臨床症状の変化とCRPや赤沈など炎症の指標の推移とが相関しないことなどより、本薬剤の奏効機序は少なくと

も直接の抗菌効果によるものではないという考えが支配的となった。

現在、DPBに対するEMの奏効機序として、①気道分泌の抑制、②炎症の抑制、③細菌に対する効果、などが想定されている。②については、好中球の遊走や単球マクロファージの成熟・分化、種々のサイトカイン遊離などに対する作用が報告されており、③については、緑膿菌の付着やエラストラーゼ産生能を抑制することが知られている。ところが、厚生省研究班のdouble blindを用いた大規模な検討において解析された多くの項目のうち、EMとプラセボで明らかな有意差がみられた

ものは喀痰量であり、EM 投与群で著明な喀痰量の減少が認められている。よって、本薬剤の臨床効果において、気道分泌量の減少がきわめて大きな比重を占めているものと思われる。以上の観点より、本稿ではとくに気道分泌系に対する EM の作用機序に焦点を絞り、最近の知見を交えて概説する。

1. 気道分泌と粘液線毛輸送

気道における粘液線毛輸送は、外界より吸入された細菌や異物、気道内の過剰な分泌物や細胞残渣などを口側へ運搬排除する機能であり、肺の生体防御機構の 1 つとして気道感染の防止に重要な役割を果たしている²⁾。その基盤となるものは線毛運動と気道分泌であり、後者は腺細胞による粘液糖蛋白分泌と上皮細胞を介する水分分泌に大別される。気道上皮細胞における水分輸送は、細胞の管腔側と漿膜側との間に生じる電気化学的勾配 (electrochemical potential gradient) に伴って二次的に招来されるものであるが、この電気化学的勾配は上皮細胞の有するイオントランスポートの機能によって規定されている。すなわち、気道上皮細胞によるイオントランスポートは、最終的に気道分泌液中の水分量の調節に深く関与しているものといえる^{3,4)}。

気道液は図 1 に示すように、粘液糖蛋白が豊富で粘稠なゲル層と、その下層にありほとんどが水分からなるゾル層の 2 層構造を形成している。よって、気腔内の水分量が増加しゾル層の丈が高くなるような病態では、喀痰量は増加し、また線毛の先端部がゲル層に到達しないため、線毛運動自体は正常であってもゲル層は有効に運搬されず

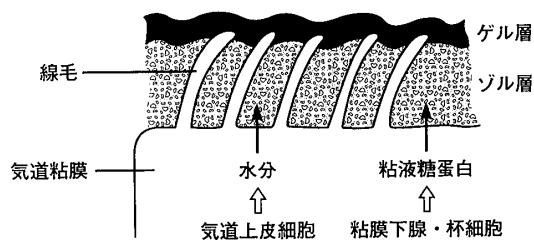


図 1 ヒト気管支粘膜の模式図

気道粘膜表面を被覆する気道液は、ゲル層とゾル層の 2 層から構成される。水分の移動はイオントランスポートに随伴して起こる。

粘液線毛輸送は障害される⁵⁾。

2. 気道上皮細胞におけるイオントランスポート

末梢気道領域の水分は線毛運動によって中枢側へ運搬されるが、その過程において気道上皮細胞による Na と Cl の吸収が起こり、水分はこれに伴い漿膜側に再吸収される。一方、中枢部気道では Na 吸収と Cl 分泌がイオントランスポートの主体をなしており、これらのイオンの移動に伴って水分の吸収あるいは分泌が起こる⁶⁾。

気道上皮におけるイオントランスポートの細胞内動態の概略を図 2 に示す。気道液中の Na 濃度は細胞内に比して高いため、Na は上皮細胞の管腔側粘膜 (apical membrane) に存在する Na チャネルを通じて細胞内に吸収される。さらに、吸収された Na は漿膜側粘膜 (basolateral membrane) の Na ポンプ、すなわちウアバイン感受性の Na-K-ATPase により細胞外に除去され、逆に K が細胞内に取り込まれる。また、以上の過程によって惹起される電気化学的勾配の変化は漿膜側粘膜の Na-K-Cl cotransporter を介する Na, K, Cl の吸収を増加させる (Na-K-Cl cotransport)。次いで、細胞内に蓄積された Na は Na ポンプより、K は K チャネルより再び漿膜側に除去されるが、Cl は管腔側粘膜に局在する Cl チャネルを通じて気腔内に分泌される。

Na チャネル機能の制御機構については未だ不

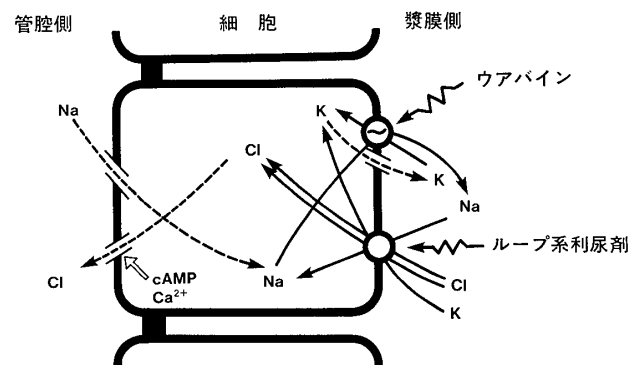


図 2 中枢部気道上皮細胞におけるイオントランスポートの細胞内動態

細胞の管腔側粘膜には Na チャネルと Cl チャネルが、漿膜側粘膜には Na-K-ATPase, K チャネル, Na-K-Cl cotransporter が存在する。Na-K-ATPase と Na-K-Cl cotransporter はそれぞれウアバインとループ系利尿剤に感受性である。

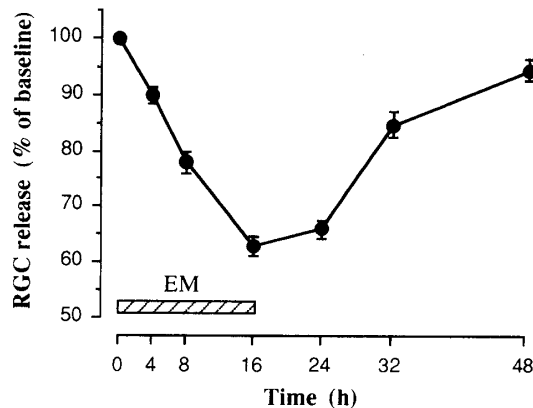


図3 ヒト気道からの粘液糖蛋白分泌 (RGC) に対するエリスロマイシン (EM, 10^{-4} M) の効果 (文献8)を一部改変。

明な点が多いが、Clチャンネルの開口は、cyclic AMPや Ca^{2+} によって促進され protein kinase Cにより抑制されることが知られている⁷⁾。したがってClチャンネル機能に対する多くの内因性生理活性物質や薬剤の効果が報告されているが、これらはいずれも上記の細胞内情報伝達系を介するものと考えられている。

3. 気道分泌系に対するマクロライドの効果

1) 粘液糖蛋白分泌の抑制

1990年、Goswamiら⁸⁾は、 3H でラベルした糖蛋白の分泌量を測定することにより、ヒト気道組織からの粘液糖蛋白分泌に対しEMが強い抑制作用を有することを報告した(図3)。以上の効果は、無刺激状態でもあるいはヒスタミンやメサコリンにより刺激した状態でも認められ、一方、アンピシリン、テトラサイクリン、セファロスポリンなど他の抗生物質では無効であったとしている。

2) 水分分泌の抑制

(1) In vitroにおける検討

筆者ら⁹⁾は、気道上皮細胞からの水分分泌に対するEMの効果을明らかにするため、気管上皮培養細胞の電気的特性の変化について検討した。イヌ摘出気管の粘膜上皮細胞を分離採取し、micropore polycarbonate filter上で培養した。培養上皮細胞はUssing chamberにマウントし、Krebs-Henseleit液に浸漬させた。細胞の粘膜側および漿膜側のメディアムにagar電極を挿入し、細胞間電位差 (transepithelial potential

difference, PD)をhigh-impedance voltmeterで測定し、またshort-circuit current (Isc)を連続的にモニターした。Iscとは、voltage clamp法によりPDを0mV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であり、netのイオン能動輸送の量を反映する指標である¹⁰⁾。細胞のコンダクタンス(G)は、測定されたIscをPDで除することにより算出した。

その結果、図4に示すように、EM (10^{-4} M)の投与前後でIscを測定すると、薬剤を管腔側に投与した場合にはIscの有意な変動はみられなかったが、漿膜側に投与した際にIscの急速な低下が

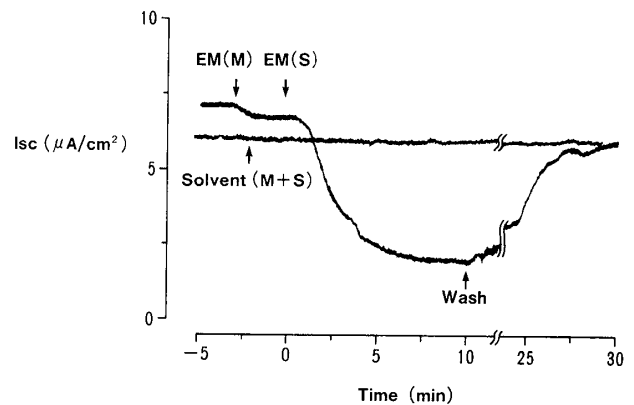


図4 エリスロマイシン (EM) 添加による気道上皮細胞 short-circuit current (Isc) の経時的変化 EM (10^{-4} M) を管腔側 (M) あるいは漿膜側 (S) に投与。対照群では溶解液のみを投与。

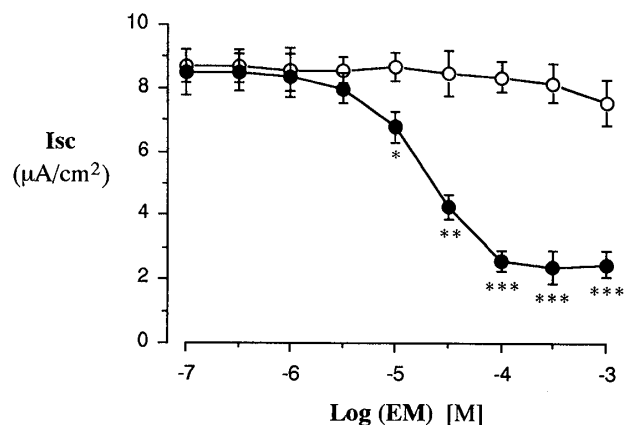


図5 気道上皮細胞の short-circuit current (Isc) に対するエリスロマイシン (EM) の濃度依存的抑制効果 ○：管腔側投与 (n=17), ●：漿膜側投与 (n=9). *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 (投与前値との比較)。

観察され、同時にPDとGも減少した。また、以上の上皮細胞Iscに対するEMの抑制効果は濃度依存性であり、最大減少量とIC₅₀は、それぞれ $5.6 \pm 1.0 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ($p < 0.001$, $n = 9$) および $18 \mu\text{M}$ であった(図5)。

次いで、これらの効果がいかなるイオンの移動に起因するものかを明らかにするため、種々の薬理的阻害薬の影響を検討した。図6に示すように、EMによるIscの減少はNaチャンネルブロッカーのamilorideによる影響を受けなかった。一方、Clトランスポート阻害薬であるbumetanide, Clチャンネルブロッカーであるdiphenylamine-2-carboxylate,あるいはCl-freeメディアウムなどによりCl輸送の関与をあらかじめ除外した条件下ではEMの効果はほぼ消失した。したがって、Iscに対するEMの作用はCl依存性であり、上皮細胞からのCl分泌の抑制に起因するものと考えられた。以上の過程における細胞内情報伝達系の関与については必ずしも明らかではない。しかし、単核球や好中球においてEMはプロスタグランディンの遊離を抑制すること¹¹⁾、プロスタグランディンは上皮細胞のClチャンネルの開口に重要な

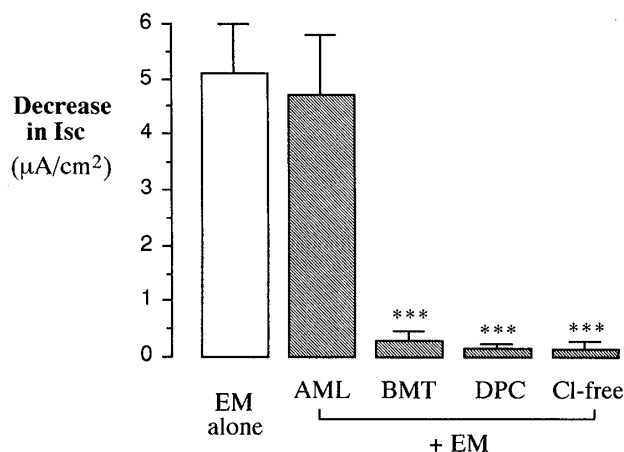


図6 エリスロマイシン(EM, 10^{-4}M)のshort-circuit current (Isc) 抑制作用に対する各種薬理的阻害薬の影響
AML: amiloride, BMT: bumetanide, DPC: diphenylamine-2-carboxylate, Cl-free: Cl-free メディアウム. *** $p < 0.001$ ($n = 9$, EM 単独の反応との比較)。

役割を果たしていることなどより、EMによる上皮細胞のプロスタグランジン産生抑制を介するものである可能性が推測される。

(2) In vivo における検討

麻酔したイヌの前頸部を切開し、下部気管にレ

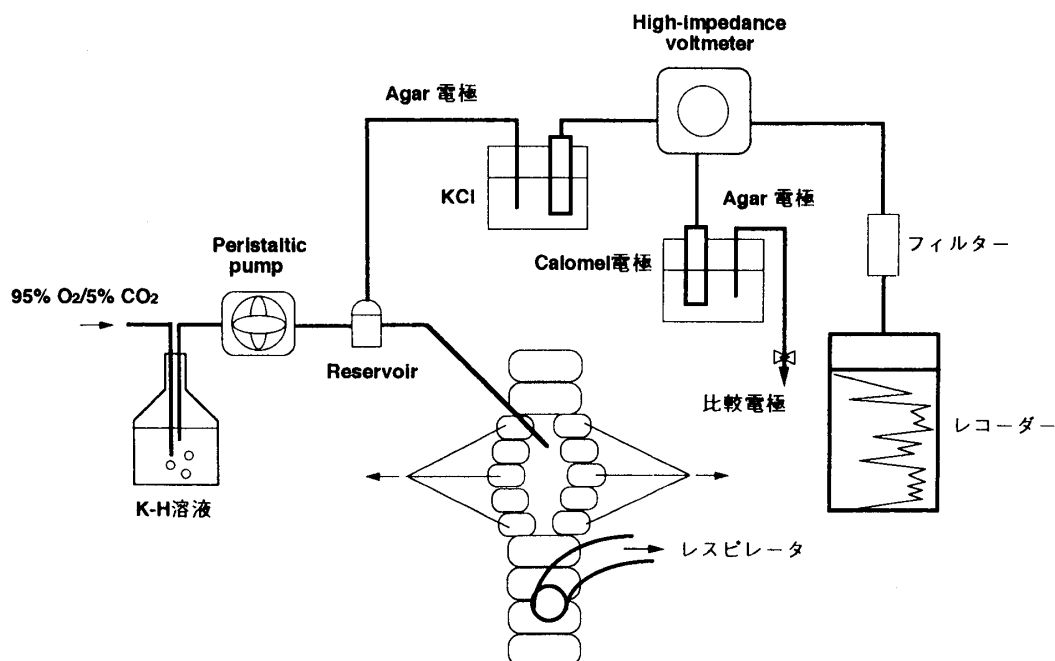


図7 気管粘膜における potential difference (PD) の in vivo での測定
粘膜表面に Krebs-Henseleit 液を灌流し、比較電極との間の電位差を high-impedance voltmeter にてモニターする。

スピレータを装着し人工換気を行った。次いでカニューレ挿入部直上を縦切開し、気管軟骨部を左右に展開し気管粘膜様部を露出させた。気管粘膜の電気的特性を測定するための電極の一端を膜様部粘膜の表面に設置し、他端より Krebs-Henseleit 液を持続灌流した(図7)。また同電極内に agar 電極を挿入し、その他端は飽和 KCl 溶液に浸漬させた。一方、agar を充填した翼状針を右胸壁皮下に刺入し、上記の気管粘膜様部との電位差を calomel 電極を介して測定した¹²⁾。まず

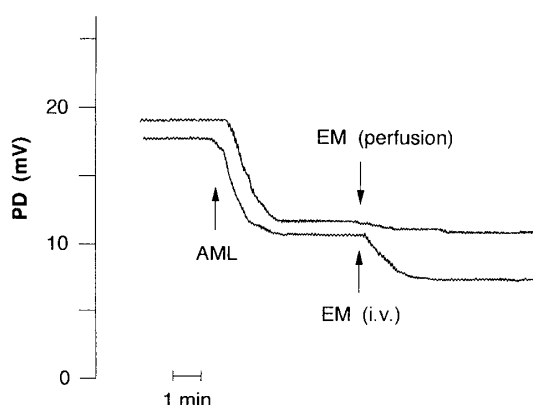


図8 気管粘膜における Cl-diffusion PD のエリスロマイシン (EM) に対する反応の経時的変化
あらかじめ amiloride (AML) を灌流し、次いで EM を灌流あるいは経静脈的に投与した。

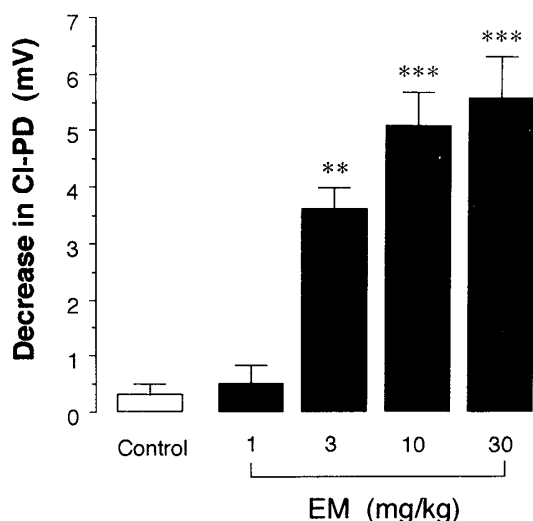


図9 気管粘膜における Cl-diffusion PD (Cl-PD) に対するエリスロマイシン (EM) の用量依存的抑制効果
** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ ($n = 9$, control 群の EM 単独の反応との比較)。

amiloride ($10^{-4}M$) を灌流し、反応が安定した時点での PD を測定し、これを Na 移動のコンポーネントを除去した条件におけるパラメーターとして Cl-diffusion PD とした。

図8に示すように、EM ($10^{-5}M$) を灌流した場合には Cl-PD の変化はみられなかったが、EM (30 mg/kg/h) を点滴静注すると Cl-PD は急速に減少し、その抑制効果は用量依存的であった(図9)。よって、自律神経伝達物質や内因性生理活性物質の存在する in vivo の系においても、in vitro の場合と同様、気道上皮細胞の漿膜側からマクロライドが到達した際に Cl 分泌の減少が惹起されることが明らかとなった。

おわりに

以上の実験成績より、EM は気道上皮細胞の Cl チャンネルの開口を抑制し、Cl 分泌の抑制は管腔側への二次的な水分移動を減少させ、結果的に DPB 症例における喀痰量の減少をもたらす可能性が示唆された。また、本薬剤は気道線毛運動を増加させる作用も有しており、粘液線毛輸送も改善されるものと思われる¹³⁾。しかし、末梢気道におけるマクロライドの効果は不明であり、また気道分泌系に影響を及ぼすのに十分な濃度の薬剤が実際に気道粘膜局所に到達しているか、臨床の場での長期連用による効果発現と in vitro での急性効果との間の discrepancy など、今後解決されるべき諸点もあり、さらなる検討が必要である。

文 献

- 1) 工藤翔二, 植竹健司, 萩原弘一ほか: びまん性汎細気管支炎にたいするエリスロマイシン少量長期投与の臨床効果に関する研究—4年間の治療成績。日胸疾患会誌 25: 632-642, 1987
- 2) Wanner A: State of the art: Clinical aspects of mucociliary transport. Am Rev Respir Dis 116: 73-125, 1977
- 3) 玉置 淳: 気道分泌とイオントランスポート。肺と心 36: 195-203, 1989
- 4) Tamaoki J, Sakai N, Isono K et al: Effects of platelet-activating factor on bioelectric properties of cultured tracheal and bronchial epithelia. J Allergy Clin Immunol 87: 1042-1049, 1991
- 5) 玉置 淳, 千代谷厚, 金野公郎: 気道分泌。アレルギー 40: 1439-1446, 1991

- 6) **Welsh MJ**: Electrolyte transport by airway epithelia. *Physiol Rev* 67 : 1143-1184, 1987
 - 7) **玉置 淳**: 気道上皮細胞のイオンチャネル。「呼吸器疾患の分子医学」(貫和敏博 編), pp153-165, 羊土社, 東京 (1993)
 - 8) **Goswami S, Kivity KS, Marom Z**: Erythromycin inhibits respiratory glycoconjugate secretion from human airways *in vitro*. *Am Rev Respir Dis* 141 : 72-78, 1990
 - 9) **Tamaoki J, Isono K, Sakai N et al**: Erythromycin inhibits Cl secretion across canine tracheal epithelial cells. *Eur Respir J* 5 : 234-238, 1992
 - 10) **Macknight ADC, DiBona DR, Leaf A**: Sodium transport across toad urinary bladder: A model "Tight" epithelium. *Physiol Rev* 60 : 615-715, 1980
 - 11) **Anderson R, Fernades AC, Eftychins HE**: Studies on the effects of ingestion of a single 500mg oral dose of erythromycin stearate on leukocyte motility and transformation and on release *in vitro* of prostaglandin E₂ by stimulated leukocytes. *J Antimicrob Chemother* 14 : 41-50, 1984
 - 12) **Tamaoki J, Sakai A, Kondo M et al**: Role of nitric oxide in tachykinin-induced increase in potential difference of rabbit tracheal mucosa. *J Physiol* 488 : 115-122, 1995
 - 13) **Tamaoki J, Chiyotani A, Sakai N et al**: Effect of erythromycin on ciliary motility in rabbit airway epithelium *in vitro*. *J Antimicrob Chemother* 29 : 173-178, 1992
-