

ニューロキニンAの鼻粘膜過敏性亢進における役割

間島 雄一

まじま ゆういち

原田 輝彦

はら だ てる ひこ

郭

かく

永清

えい せい

坂倉 康夫

さか くら やす お

8名の健康成人男性を対象とした。ニューロキニンA (Neurokinin A: NKA) は、非アドレナリン、非コリン作動性の神経ペプチドの一つであり、この128 μg をジェットネブライザーで鼻粘膜に投与した。対照として生理的食塩水を同様に投与した。NKA投与または生食投与10分前にニュートラルエンドペプチターゼ (neutoral endpeptidase) 抑制剤であるチオルファン (thiorphan) 2.5 mg を同様に投与した。そしてNKAまたは生食投与10分後にヒスタミンに対する反応閾値を検討した。

くしゃみまたは水様性鼻漏を生ずる最小ヒスタミン濃度にはNKA投与の場合と生食投与の場合で有意の差は認められなかった。またNKAはacoustic rhinometerで評価した鼻腔の通気性にも影響を示さなかった。これらの結果よりNKAは正常人においてヒスタミンに対する鼻粘膜過敏性を亢進しない可能性が示唆された。

はじめに

ある個体に鼻アレルギーが発症するためには、1. IgE抗体産生機能の亢進、2. 好塩基性細胞からのメディアーター遊離機能の亢進、3. 鼻粘膜過敏性の亢進の三つが必要である。このうち鼻粘膜過敏性の亢進とはある個体の鼻粘膜が他の大多数の個体に比較して抗原などの特異的刺激や、化学的刺激、塵埃、冷氣などの非特異的刺激に対して反応しやすい状態、すなわち反応性が亢進している状態をいう。例えば花粉症患者では花粉飛散季節時と非季節時に一定量のヒスタミンやアセチルコリンに対する反応をみるとくしゃみ発作の頻度、鼻汁量、鼻粘膜腫脹の程度のいずれも季節時が非季節時に比し有意に亢進しており¹⁾鼻過敏症が鼻アレルギーの発症と密接な関係を有していることが推測される。

本研究では非アドレナリン、非コリン作動性 (non-adrenergic, noncholinergic: NANC) 神経ペプチドの一つである neurokinin A (以下NKA) の鼻粘膜への局所投与が鼻粘膜過敏性にいかなる影響を有

するかを検討した。

対象と方法

1. 対象

健康成人男性8名(25~50歳、平均年齢36.1歳)を対象とした。全例、鼻疾患を有しない非喫煙者であった。本研究は三重大学医学部研究等に関する倫理委員会の承認を得たものであり、対象となったボランティアは全員研究の趣旨および内容の説明を受けた上、研究対象として同意したものである。

2. 神経ペプチドの鼻腔内投与

チオルファン (Sigma T 6031) 5 mg/ml, 0.5 ml をジェットネブライザー (永島) を用いて左右の鼻腔に付加圧0.5 kg/cm²にて同時に投与した。チオルファン投与後10分後にNKA (ペプチド研究所 KK 4154-V) 256 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を0.5 ml 同じジェットネブライザーを用いて鼻腔内に投与した。対照としてNKAにかえて生理的食塩水0.5 mlを同様に鼻腔内に投与した。

3. ヒスタミンによる鼻粘膜過敏性反応閾値 (ヒスタミン閾値) の測定

塩酸ヒスタミン (Sigma H 7250) を生理的食塩水に溶解し、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10² $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10³ $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10⁴ $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10⁵ $\mu\text{g}/\text{ml}$ の5段階のヒスタミン希釈液を作製し、各鼻腔粘膜に10 μl ずつ両側鼻腔に計20 μl

三重大学医学部耳鼻咽喉科学教室
別刷請求先: 間島雄一
〒514 津市江戸橋2-174
三重大学医学部耳鼻咽喉科学教室
0592-32-1111

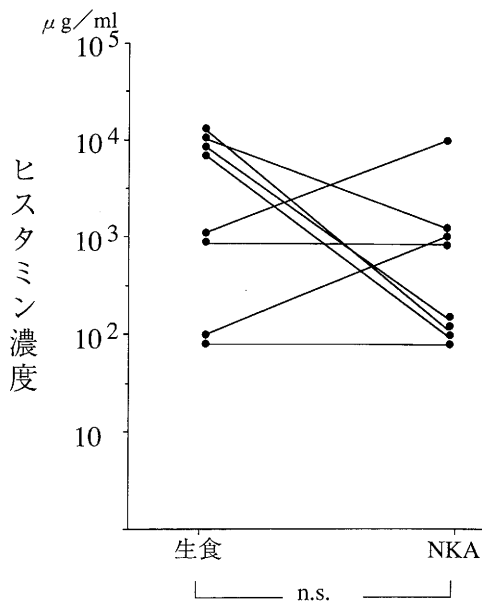


図1 NKA および生食投与時のヒスタミン閾値

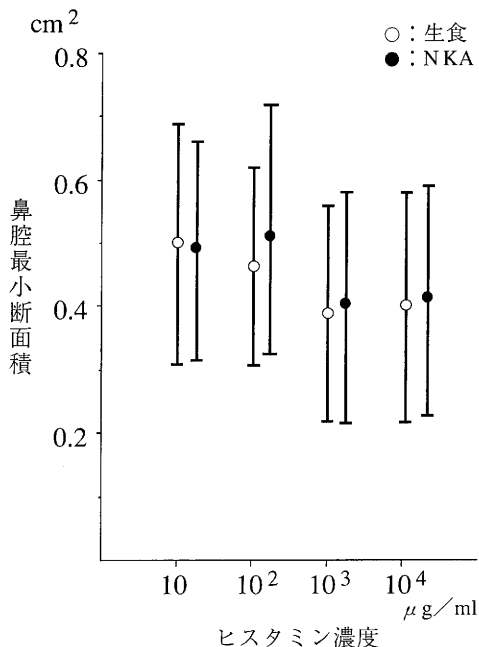


図2 NKA および生食投与時の鼻腔最小断面積

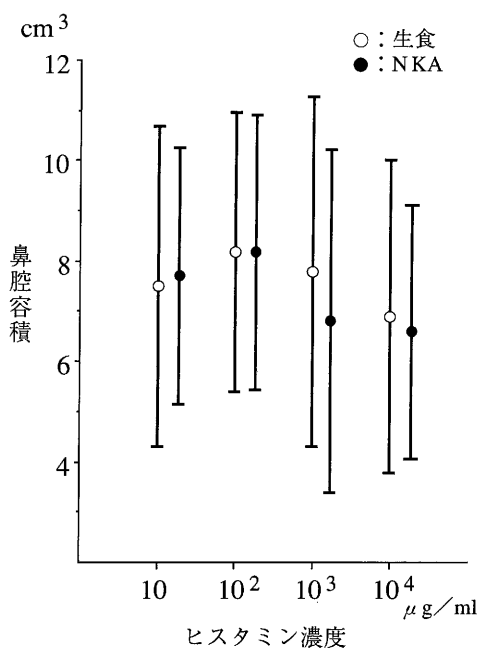


図3 NKA および生食投与時の鼻腔容積

滴下した。10 $\mu\text{g/ml}$ より投与を開始し、10分間隔で順次濃度の濃いヒスタミン希釈液を投与した。ヒスタミン閾値の測定はNKA又は生理的食塩水投与10分後より開始した。

ヒスタミン投与によりはじめてくしゃみ発作または明らかな水様性鼻漏が誘発される最低ヒスタミン濃度をヒスタミン閾値とした。

4. Acoustic rhinometry (AR) による鼻閉の評価

AR²⁾により鼻腔最小断面積と鼻入口部より2.0~7.8 cmにおける鼻腔容積を測定した。測定はチオルファン投与前、NKAまたは生理的食塩水投与後、各濃度のヒスタミン投与後に施行した。

5. 統計学的解析

対応のあるWilcoxon検定によった。文中の値は平均 \pm 1 SDにて表現した。

結 果

1. NKAの鼻症状に及ぼす影響

チオルファン投与後NKAを投与した場合とチオルファン投与後生理的食塩水を投与した場合で鼻症状について検討した。生理的食塩水投与の場合も、NKA投与の場合もくしゃみ、鼻漏の出現は認めなかった。生理的食塩水とNKAで鼻腔最小断面積はそれぞれ $0.51 \pm 0.20 \text{ cm}^2$, $0.48 \pm 0.20 \text{ cm}^2$ で両者間に差は認められず、また鼻腔容積もそれぞれ $8.44 \pm 3.59 \text{ cm}^3$, $7.99 \pm 2.59 \text{ cm}^3$ で差を認めなかった。

2. NKAのヒスタミン閾値に及ぼす影響

生理的食塩水投与後のくしゃみまたは鼻漏によるヒスタミン閾値は被検者により異なり、そのヒスタミン濃度は $10^2 \mu\text{g/ml}$ から $10^4 \mu\text{g/ml}$ と個人差が認められた。NKA投与後のヒスタミン閾値は投与

後閾値が低下したもの(生理的食塩水投与時よりくしゃみまたは鼻漏を生ずるヒスタミン濃度が低下したもの)4例, 不変2例, 閾値が上昇したものの2例であり, 生理的食塩水投与とNKA投与とでは両者の間にヒスタミン閾値に差は認められなかった(図1)。

3. ヒスタミン投与と鼻腔最小断面積, 鼻腔容積

生理的食塩水投与後またはNKA投与後に10 $\mu\text{g/ml}$ から10⁴ $\mu\text{g/ml}$ まで順次濃度の濃いヒスタミンを鼻腔内に投与した場合の鼻腔最小断面積, 鼻腔容積をそれぞれ図2,3に示した。鼻腔最小断面積, 鼻腔容積とも各ヒスタミン濃度において生理的食塩水投与時とNKA投与時とで両者間に有意差を認めなかった。

考 察

気道の過敏性亢進のメカニズムについては未だ解明されていないといって過言ではない。Barnesは下気道の気道過敏性のreview³⁾の中で炎症の気道過敏性への関与を示唆している。なかでも好酸球を中心とする炎症細胞や炎症細胞から放出される種々のメディエーターの重要性を指摘している。すなわちこれらの炎症細胞から放出されるメディエーターにより上皮の損傷が生じ, この結果過敏性が亢進するという仮説である。

近年, 非アドレナリン, 非コリン(NANC)作動性神経ペプチドによる神経性炎症の概念が提唱されている。知覚神経はその神経終末で知覚情報を受け取り, 順行性に求心情報を中枢に伝えるわけであるが, この情報伝達にNANC作動性神経ペプチドの関与が知られている。一方, 知覚神経終末よりNANC作動性神経ペプチドが逆行性に遊離されるメカニズムは軸索反射と呼ばれ皮膚においてはその存在が確認されており, 気道においても存在の可能性が示唆されている。知覚神経終末で受容された知覚刺激は軸索にそって順行性に伝えられるが, 一部は軸索反射により側枝を介して逆行性に伝わり末梢枝の神経終末よりNANC作動性ペプチドが放出されるというものである⁴⁾。

NANC作動性神経ペプチドの中でもよく知られているのがサブスタンスP(SP), ニューロキニンA(NKA)などのタキキニンとカルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)である。鼻粘膜ではこれらを含む神経繊維は腺周囲, 血管周囲, 上皮内, 上皮直下

に存在し⁵⁾, 軸索反射により放出されたこれらの神経ペプチドは末梢血管の透過性を亢進し, 浮腫, 血清成分, 腺よりの分泌の亢進などにより神経性炎症が惹起されるといわれている⁴⁾。

NKAはSPと同一遺伝子から由来するタキキニンの一種でSPと同じ神経に分布し, 強い気管支収縮作用を有することが知られている。NKAの気道の過敏性への役割についてはAbrahamら⁶⁾は*Ascaris suum*に対するアレルギーを有するヒツジにおいてNKA吸入投与は下気道のメサコリンに対する反応(気管支の収縮)閾値を投与後30分に有意に低下させたと報告している。一方, Cheungらは正常ヒト⁷⁾および気管支喘息患者⁸⁾においてNKA吸入投与は下気道のメサコリンに対する反応閾値を投与後24時間では変化させなかったとしている。このようにNKAの気道過敏性に対する検討は下気道において報告されているもののその結論は一定しておらず, また上気道についての検討は過去に報告されていない。

局所に投与されたNKAなどのタキキニンは組織中のニューtralエンドペプチダーゼ(NEP)により加水分解されて不活性化することが知られている⁹⁾。気道におけるNEPの分布は上皮(とくに基底細胞), 腺, 神経, 平滑筋に分布し¹⁰⁾, 逆行性に知覚神経終末より遊離したタキキニンが標的細胞に効果を発揮する前にNEPにより加水分解されて不活性化されてしまうとされている¹⁰⁾。一方, NEPの酵素活性はチオルファンにより抑制することができる。NKAを健常成人鼻腔に投与した今回の検討ではNKA投与10分前にチオルファンを投与した。すなわち, 鼻腔局所に投与されたNKAは鼻粘膜より吸収されるが, 鼻粘膜上皮などに存在するNEPにより不活性化されるものと考えられる。そこで今回の検討ではチオルファンにより前処置をしてNEPの働きを抑制した後にNKAを投与したわけである。今回使用したNKAは256 $\mu\text{g/ml}$, 0.5 mlでこれはチオルファンで前処置した健常成人の肺機能を低下させうる濃度である⁷⁾。また, チオルファン2.5 $\mu\text{g/ml}$, 0.5 mlの使用は下気道でのNKAの呼吸機能への影響を有意に増強したと報告されていることより⁷⁾, 今回の検討ではさらに増量して鼻腔に投与し, 鼻症状(くしゃみ, 鼻漏, ARによる鼻閉の程度, 刺激性)を来さない濃度として5.0 $\mu\text{g/ml}$, 0.5 ml投与を採用した。

今回の結果ではチオルファン投与後 NKA 256 $\mu\text{g/ml}$, 0.5 ml を投与した場合, 鼻症状(くしゃみ, 鼻漏, AR による鼻閉の程度)に変化は認められなかった。この理由の一つとして NKA のレセプターが鼻では大部分が動脈周辺のみが存在しており, 静脈叢や腺に存在しない¹¹⁾ことがあげられる。今回の結果より, 軸索反射により局所に放出された NKA は鼻症状の発現に重要な役割を果たしていない可能性が示唆された。

鼻過敏性とはくしゃみ, 鼻漏, 鼻閉といった鼻症状が特異的または非特異的な鼻粘膜への刺激により発現する性質であり, この過敏性の程度は個体間において異なっている。鼻過敏性亢進は各個体が通常の状態より鼻粘膜刺激に対し, より反応しやすくなっている状態であり, これを知るための非特異的的刺激として種々の物質が報告されている¹⁾。本研究ではこのうち鼻アレルギーの主要化学伝達物質の一つであるヒスタミンを用い, 過敏性の指標としてくしゃみ, 鼻漏, AR による鼻閉の程度を採用した。

今回の検討では NKA 投与によりヒスタミンに対する鼻粘膜過敏性反応閾値に変化は認められなかった。使用した NKA 濃度は健常成人の下気道の呼吸機能に影響を生ずる濃度であることから⁷⁾, NKA は鼻粘膜過敏性亢進に重要な働きをしていないことが示唆された。

まとめ

健常成人鼻腔を NEP 抑制剤であるチオルファンで前処置をした後, NKA を投与し次の結果を得た。

1. NKA は鼻症状(くしゃみ, 鼻漏, 鼻閉)を発現しなかった。
2. NKA はヒスタミンに対する鼻粘膜過敏性閾値を亢進させなかった。

本研究の要旨は第 19 回日本医用エアロゾル研究会(1995 年 9 月, 津市)において口演した。

参考文献

- 1) 鶴飼幸太郎: 鼻粘膜過敏性試験. 臨床免疫 20(補 13): 276~283, 1988.
- 2) Yamagiwa M, Hilberg O, Pedersen OF, et al: Evaluation of the effect of localized skin cooling on nasal airway volume by acoustic rhinometry. Am Rev Respir Dis 141: 1050~1054, 1990.

- 3) Barnes PJ: New concepts in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma. J Allergy Clin Immunol 83: 1013~1026, 1989.
- 4) Pernow B: Role of tachykinins in neurogenic inflammation. J Immunol 135: 812s~815s, 1985.
- 5) Takatsu N: A distribution of neuropeptides in human nasal glands: Quantitative study. Mie Med J 43: 185~192, 1993.
- 6) Abraham WM, Ahmed A, Cortes A, et al: Airway effects of inhaled bradykinin, substance P, and neurokinin A in sheep. J Allergy Clin Immunol 87: 557~564, 1991.
- 7) Cheung D, Bel EH, Hartigh JD, et al: The effect of inhaled neutral endopeptidase inhibitor, thiorphan, on airway responses to neurokinin A in normal humans *in vivo*. Am Rev Respir Dis 145: 1275~1280, 1992.
- 8) Cheung D, Timmers MC, Zwinderman AH, et al: Neutral endopeptidase activity and airway hyperresponsiveness to neurokinin A in asthmatic subjects *in vivo*. Am Rev Respir Dis 148: 1467~1473, 1993.
- 9) Martins MA, Shore SA, Gerard NP, et al: Peptidase modulation of pulmonary effects of tachykinins in tracheal superfused guinea pig lungs. J Clin Invest 85: 170~176, 1990.
- 10) Nadel JA: Neutral endopeptidase modulates neurogenic inflammation. Eur Respir J 4: 745~754, 1991.
- 11) Baraniuk JN, Lundgren JD, Okayama M, et al: Substance P and neurokinin A in human nasal mucosa. Am J Respir Cell Mol Biol 4: 228~236, 1991.

Summary

THE ROLE OF NEUROKININ A IN NASAL HYPERRESPONSIVENESS IN NORMAL SUBJECTS

Yuichi Majima, MD
Teruhiko Harada, MD
Yongging Guo, MD
Yasuo Sakakura, MD

Department of Otorhinolaryngology,

Mie University School of Medicine

Eight normal male subjects participated in this study. Neurokinin A (NKA, 128 μg), one of the nonadrenergic and noncholinergic neuropeptides, or physiological saline solution as a control was administered to nasal mucosa by jet nebulizer. The nasal mucosa was treated with thiorphan (2.5 mg), a neutral endopeptidase inhibitor, 10 minutes prior to NKA or saline administration. Ten minutes after NKA or saline challenge, dose responses to histamine were

examined.

There was no significant difference in the histamine concentration that initially caused sneeze or watery rhinorrhea between NKA and saline administrations. NKA did not change the nasal patency evaluated by acoustic rhinometer. Results suggest that NKA does not induce hyperresponsiveness to histamine in normal human nose.

Key words: neurokinin A, hyperresponsiveness, histamine
