

原 著

ラットにおけるセロトニン誘発気管支収縮に対する サルボグレラートの作用

田 中 求

The Effects of Sarpogrelate on Serotonin-Induced Bronchoconstriction in Rats

Motomu Tanaka (Department of Pharmacology, Saitama Medical School, Moroyama, Iruma-gun, Saitama 350-0495, Japan)

A bolus injection of 5-HT ($32 \mu\text{g/kg}$) into the right atrium immediately induced Bezold-Jarisch reflex (hypotension, bradycardia and apnea) and delayed bronchoconstriction (assumed by decreased air flow and increased intrapleural pressure) in anesthetized, spontaneously breathing rats. This bronchoconstrictor response was mimicked by α -methyl-5-HT (5-HT₂-receptor agonist : $32 \mu\text{g/kg}$), and 5-methoxytryptamine (5-HT₂- and 5-HT₄-receptor agonist : $32 \mu\text{g/kg}$), but not by 1-phenylbiguanide (5-HT₃-receptor agonist : $16 \mu\text{g/kg}$) or cisapride (5-HT₄-receptor agonist : $32 \mu\text{g/kg}$). To study the effects of 5-HT and α -methyl-5-HT on the airway dynamics, lung conductance (G_L) and lung compliance (C_L) were calculated from flow rate, tidal volume and intrapleural pressure curves. Dose response curve (DRC) of 5-HT on G_L or C_L was not affected by granisetron (5-HT₃-receptor antagonist : 0.05 mg/kg), but DRC of α -methyl-5-HT was significantly shifted to the right. Subsequently, both the DRCs of 5-HT and α -methyl-5-HT were shifted to the right by sarpogrelate (5-HT₂-receptor antagonist : $0.3, 1.0 \text{ mg/kg}$) in a dose-dependent manner. Moreover, the bronchoconstriction of 5-HT and α -methyl-5-HT (respectively $32 \mu\text{g/kg}$) were either abolished or potently reduced by bilateral, cervical vagotomy, but the bronchoconstriction response to 5-HT was partly recovered at $128 \mu\text{g/kg}$. Peak response latency of G_L were $9.14 \pm 0.39 \text{ sec}$ in 5-HT ($32 \mu\text{g/kg}$), suggesting that the response might be originated at the bronchial vascular bed. These results suggest that, at least in the rat, 1) 5-HT-induced bronchoconstriction is mediated by 5-HT₂-receptor, but not by 5-HT₃- or 5-HT₄-receptor, 2) sarpogrelate antagonizes 5-HT-induced bronchoconstriction in a dose-related manner, 3) 5-HT-induced bronchoconstriction is potently augmented by vagal reflex, but is primarily mediated by a direct action in the airway, 4) the possible site of action of intravenous 5-HT is the bronchial, not the pulmonary vascular bed.

Keywords: Sarpogrelate, 5-hydroxytryptamine (5-HT), 5-HT₂ receptor, Vagotomy, α -Methyl-5-HT, Bronchoconstriction

J Saitama Med School 2003;30:9-18

(Received November 12, 2002)

緒 言

セロトニン (5-Hydroxytryptamine ; 5-HT) は中枢、末梢に広く分布する内因性のオータコイドであり、その受容体は末梢では4つのサブタイプに分類されている (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ および 5-HT₄)¹⁾. 外因性 5-HT は多様な呼吸循環反応を引き起こすことが知られているが、その作用は動物種、投与経路により様々である²⁻⁷⁾. 我々は C-線維刺激薬 (capsaicin, 5-HT および veratrine) の右心房内投与によ

る実験で、ラット、ウサギおよびイヌの反応に種差が見られることを報告した⁷⁾. このときラットでは 5-HT の右心房内投与により、Bezold-Jarisch 反射 (降圧・徐脈・無呼吸) とともに胸腔内圧の増加と呼吸流量の減少が誘発されることから、5-HT による気道抵抗増加作用 (気管支収縮) の存在が推定された. このように 5-HT に対して高い感受性を示すことから、本実験では 5-HT の気管支収縮作用を検討するモデルとしてラットを選んだ. 迷走神経求心性終末にはいくつかの 5-HT 受容体サブタイプが存在する事が知られている¹⁾ (5-HT₂, 5-HT₃ および 5-HT₄). ラットの単離した頸部迷走神経の細胞外記録の実験で、5-HT₃ 受容

体以外に 5-HT₄ 受容体を介する脱分極成分があるとの報告がある⁸⁾。また、モルモットでは気管支収縮作用は vagotomy によりほとんど影響受けないとの報告がある⁹⁾。本研究では、1) 5-HT 誘発気管支収縮作用に関与する受容体サブタイプの決定、2) 5-HT が誘発した G_L および C_L の減少に対する選択的 5-HT₂ 受容体遮断薬 sarpogrelate の影響、3) vagotomy による影響、4) 反応潜時を計測することによる反応部位の推定の検討を行った。

実験方法

1. 実験動物

体重 260-420 g (平均 308 g) の Wistar 系雄性ラット合計 64 例を実験に供した。本研究は全て、埼玉医科大学動物実験委員会の動物愛護指針に従って実施した。

2. 外科的手技

Urethane (500 mg/kg)-chloralose (50 mg/kg) 混液の腹腔内投与により麻酔し、腹側頸部と右大腿三角部を剃毛し、無用な疼痛を避けるために、局所麻酔薬の塩酸リドカイン注射液 (Astra Japan : Xylocaine 1%) を皮下注射してから皮膚の切開を行った。気管切開後、気管カニューレ (外径 : 2.3 ~ 2.6 mm) を挿管し、呼吸ガスモニタ (日本電気三栄, 1H26) を用いて、20 ml/min のサンプル量で、気管内炭酸ガス濃度を経時的に計測した。右大腿動脈に三方活栓付きのポリエチレンカテーテル (Becton-Dickinson, PE-50) を挿管し、圧トランスデューサ (日本光電, TXX-R) および血圧測定用アンプ (日本光電, AP-641G) に接続して動脈血圧を計測し、心拍計ユニット (日本光電, AT-601G) で心拍数をモニターした。5-HT 作用薬の bolus 投与から反応 (反射性無呼吸、気道収縮など) が起こるまでの潜時を正確に測定するために、三方活栓付きポリエチレンカテーテル (PE-20) を内頸静脈から挿管してその先端を右心房内に留置した。実験終了後、その先端の位置を確認し、右心房内に位置していなかった例は本実験から削除した。右大腿静脈カテーテル (PE-50) は 5-HT 拮抗薬およびその他の薬物の投与に用いた。右大腿三角部の切開部は疼痛除去と乾燥を防ぐ目的で、リドカインゼリー (Astra Japan : Xylocaine Jelly 20 mg/mL) を投与した後縫合した。5-HT の気道収縮反応が迷走神経両側切断により消失するとの報告があることから¹⁰⁾、頸部両側迷走神経切断の効果も検討した。

3. 換気力学の測定法

気管カニューレの主管に気流抵抗管 (日本光電, TV-241T) を接続し、差圧トランスジューサ (日本光電, TP602T) を介して呼吸用アンプ (日本光電, AR-601G) により呼吸流速 ($\dot{V}$) を計測し、換気量ユニット (日本光電, AQ-601G) で積分して一回換気量 (V_T) を

モニターした。差圧トランスジューサでの死腔増加を消去して自発呼吸で適正な換気を得るため、気管カニューレの側管から乾燥空気を持続的に通気 (0.5 L/min) した。胸腔内圧は、ヘパリン (200 U/ml) を充填した胸腔内圧測定用カテーテル (先端に 18G の注射針を適用した) を第 5-6 肋骨間から胸腔内に刺入し (刺入部にはリドカインをあらかじめ皮下注射した)、圧トランスデューサ (日本光電, TXX-R) および血圧測定用アンプ (日本光電, AP-641G) に接続して胸腔内圧 (Ppl) を測定した。In vivo の実験では気道抵抗の変化を肺コンダクタンス (G_L) と肺コンプライアンス (C_L) の変化として定量的に評価できることから、気管支収縮の指標としてこれらを用いた。 G_L は気道抵抗の逆数であり主に平滑筋を有する気管支および細気管支の抵抗を反映し、 C_L は弾性率の逆数であり、平滑筋を有しない呼吸細気管支、肺胞管および肺胞の抵抗を反映する¹¹⁾。 G_L と C_L は Amdur and Mead¹²⁾ の方法に従って、呼吸流速 ($\dot{V}$)、換気量 (V_T) および胸腔内圧 (Ppl) の測定値を Fig. 1 の計算式に代入することにより求めた。5-HT 作用薬の注入前の 5 呼吸の G_L および C_L を算出し、最高値と最低値を除外し、中間値の平均をとり baseline 値とした。また、5-HT 作用薬の反応の評価には注入後の G_L の最小値を最大反応として用いた。Fig. 4, 5 では 5-HT 拮抗薬の影響を評価するために baseline 値に対する G_L および C_L の値の百分率として表した。すべての成績はオムニコーダ (日本電気三栄, 8M14) に記録した。

4. 薬物

5-HT 受容体作用薬として 5-HT creatinine sulfate (Sigma Chemical, St. Louis, U.S.A.)、 α -methyl-5-HT maleate (RBI, MA, U.S.A.)、1-phenylbiguanide (RBI)、5-methoxytryptamine HCl (Sigma Chemical)、cisapride (Kyowa Hakko, 東京, 日本)、5-HT 受容体拮抗薬として sarpogrelate HCl (Mitsubishi Tokyo, 東京, 日本)、granisetron HCl (Smith-Kline Beecham, UK) を用いた。

今回用いた 5-HT 受容体作用薬および拮抗薬の選択性と効力は Table 1 に示した。

全ての薬物は生理的食塩液に溶解して用いた。5-HT 作用薬は tachyphylaxis を起こしやすいことから^{13, 14)}、投与間隔は効果の再現がえられる 10 分とした。Control 群、granisetron 投与群、sarpogrelate 0.3 および 1.0 mg/kg 投与群の間隔は作用薬の反応性を回復させるために 30 分開猶予を置いた。5-HT 作用薬の投与容量は 0.1 mL/kg の右心房内 bolus 投与、5-HT 拮抗薬の投与容量は 1 mL/kg で大腿静脈より緩徐 (1 mL/min) に投与した。

5. 実験のプロトコール

① 5-HT 作用薬の作用比較 : 5-HT、 α -methyl-5-HT、phenylbiguanide、5-methoxytryptamine、および cisapride を右心房内に投与し反応を観察した。

② 5-HT の DRC に対する granisetron および sarpogrelate の影響：5-HT (4~32 μ g/kg) の反応を観察してから、30 分間後に、granisetron 0.05 mg/kg の静脈内注射を行い、5-HT (4~32 μ g/kg) の反応を観察した、さらに 30 分間後に、sarpogrelate 0.3 mg/kg の静脈内注射を行い、5-HT (16~256 μ g/kg) の反応を観察した。

③ 5-HT および α -methyl-5-HT の DRC に対する vagotomy の影響：5-HT および α -methyl-5-HT (4~32 μ g/kg) の反応を観察し、両側頸部迷走神経切断後に、5-HT および α -methyl-5-HT (32~256 μ g/kg) の反応を観察した。

④ 5-HT および α -methyl-5-HT の反応 onset latency の計測：5-HT (32 μ g/kg) および α -methyl-5-HT (32 μ g/kg) の無呼吸、過呼吸反応開始潜時および G_L の最小反応までのピーク潜時を計測した。

6. 統計処理

気道収縮反応については、対照値におけるの最大反応の 50% の反応を与える作用薬の用量 (ED_{50}) について統計的検討を行った。値は平均値±標準誤差 (SEM) で表し、群間の有意差は分散分析後 Scheffe's test を用いて検定した。P<0.05 を推計学的に有意と判定した。

結 果

1. 各種 5-HT 受容体作用薬の反応と 5-HT₂ および 5-HT₃ 受容体遮断薬の影響

麻酔下で自発呼吸のラットに 5-HT (32 μ g/kg; n=32) を右心房内に bolus として投与すると、無呼吸、三相性の血圧反応 (反射性降圧、昇圧と持続性降圧)、徐脈が誘発されたが、無呼吸の後に気流量の減少と胸腔内圧の増加で推定される気道抵抗増加反応 (気管支収縮) も誘発された (Fig. 2)。5-HT₂ 受容体作用薬の α -methyl-5-HT (32 μ g/kg; n=32) の投与では、無呼吸と徐脈はほとんど惹起しないで、気道抵抗増加反応、昇圧および遷延性の降圧が生じた。5-HT₃ 受容体作用薬 phenylbiguanide (16 μ g/kg; n=16) では無呼吸、徐脈および反射性降圧が誘発されたが、気道抵抗増加反応は誘発されなかった。5-HT₂ および 5-HT₄ 受容体作用薬の 5-methoxytryptamine (32 μ g/kg; n=12) の投与では α -methyl-5-HT と同程度の気道抵抗増加反応、昇圧および遷延性の降圧を生じたが、5-HT₄ 受容体作用薬に分類されている cisapride (32 μ g/kg; n=9) では顕著な呼吸・循環反応は観察されなかった。また、5-HT および phenylbiguanide では無呼吸の期間に呼吸興奮も観察された。5-HT₃ 受容体拮抗薬である granisetron (0.05 mg/kg) の静脈内投与後、それ自体では呼吸・循環に対し何ら反応を示さなかったが、5-HT による反射性降圧、無呼吸、呼吸興奮および徐脈反応は消失し、気道抵抗増加反応、昇圧および持続性降圧が残った。続いて、5-HT₂ 受容

体遮断薬である sarpogrelate (0.3 mg/kg) の投与後、それ自体では呼吸・循環に変化が見られなかったが、5-HT 誘発気道抵抗増加反応は完全に消失した (Fig. 3)。 α -methyl-5-HT と 5-methoxytryptamine で誘発された気道抵抗増加反応も sarpogrelate の前処置により消失した。

2. 肺コンダクタンス (G_L) と肺コンプライアンス (C_L) に対する影響

5-HT は用量依存的に肺コンダクタンス (G_L) と肺コンプライアンス (C_L) を減少し、この反応は 5-HT₃ 受容体遮断薬の granisetron 0.05 mg/kg の静脈内投与ではほとんど影響を受けなかったが、続く、5-HT₂ 受容体遮断薬の sarpogrelate 0.3, 1.0 mg/kg の投与により用量依存的に抑制された (Fig. 4)。 α -methyl-5-HT も用量依存的に G_L と C_L を減少し、この反応は granisetron 0.01 mg/kg の静脈内投与により右方移動した (Fig. 5)。続く、sarpogrelate 0.3, 1.0 mg/kg の静脈内投与により G_L と C_L はさらに抑制された。Table 2 に Fig. 4, 5 における 5-HT と α -methyl-5-HT の G_L および C_L の ED_{50} 値と分散分析後の Scheffe's test の結果をまとめた。5-HT と α -methyl-5-HT の ED_{50} 値から分子量 (5-HT creatinine sulfate : mol wt 387.4, α -methyl-5-HT maleate : mol wt 306.32) を補正して、 α -methyl-5-HTの方が 5-HT より G_L では約 3 倍、 C_L に対しては約 2 倍程強いことが示された (Table 2)。

3. 両側頸部迷走神経切断による影響

両側迷走神経を頸部で切断すると、5-HT により誘発された無呼吸、降圧、徐脈反応は消失したが、無呼吸の間に見られる呼吸興奮は残存した。また、5-HT および α -methyl-5-HT により誘発された遅延性の気道抵抗増加反応は強く抑制された (Fig. 6)。特に 5-HT の反応はほぼ完全に消失したが、128 μ g/kg へ増量すると再び軽度の気流量の減少および胸腔内圧の増加が起こり気道抵抗増加反応の残存が認められた (data not shown)。

4. 5-HT 誘発気道収縮反応の潜時

5-HT と α -methyl-5-HT の投与から無呼吸と呼吸興奮の開始までの潜時と G_L の最小値までの時間を計測した (Fig. 7)。右心房内 bolus 投与法¹⁵⁾を用いてその反応潜時から、肺血管床と気管支動脈床にある作用点を分離することが可能になった。5-HT 投与後、即時に、無呼吸、降圧および徐脈が起こり (投与からの潜時：1.51±0.16 秒)、無呼吸の期間内に呼吸興奮 (潜時：1.81±0.06 秒)、その後、胸腔内圧の上昇と気流量の減少がおこった (投与からのピークまでの潜時：9.14±0.39 秒)。5-HT 誘発気管支収縮の最大反応までの潜時は granisetron 0.05 mg/kg の静脈内投与後、有意に短縮した (9.14±0.39 秒から 8.22±0.25 秒に)。 α -methyl-5-HT では granisetron 前後に有意な差はなかった (Fig. 7)。この相違は 5-HT により生ず

るべき気道収縮の最大反応が同時期に誘発された無呼吸反応により mask されていたと考えられる。

考 察

1) sarpogrelate の拮抗作用

Sarpogrelate は我が国で開発された選択的 5-HT₂ 受容体拮抗薬であるが¹⁶⁾, *in vivo* の気道系におけるその拮抗作用の系統的研究を今回初めて行った。Urethane-chloralose 麻酔, 自発呼吸の条件下で, 5-HT, α -methyl-5-HT および 5-methoxytryptamine の右心房内 bolus 投与により, 胸腔内圧の増加と呼吸流量の減少から推定される気道抵抗増加反応 (気管支収縮) が誘発されたが, phenylbiguanide および cisapride では生じなかった。Rhodes ら⁸⁾ はラット単離迷走神経の細胞外記録法により, 5-HT 誘発脱分極に 5-HT₃ 受容体の他に 5-HT₄ 受容体を介する脱分極成分を見いだしており, 5-HT による気道抵抗増加反応に 5-HT₄ 受容体の関与を示唆したが, この気道抵抗増加反応は選択的 5-HT₂ 受容体作用薬の α -methyl-5-HT により同様に誘発されたことと, 5-HT₂ 受容体拮抗薬である sarpogrelate により用量依存的に遮断された事から (Fig. 4, 5), この反応が 5-HT₃ および 5-HT₄ ではなく 5-HT₂ 受容体が主に関与していることが本研究により示された。

2) granisetron の投与前後における 5-HT と α -methyl-5-HT の反応性の相違

肺コンダクタンス (G_L) と肺コンプライアンス (C_L) に対する 5-HT (4-32 μ g/kg) による用量反応曲線 (DRC) は granisetron 0.05 mg/kg の静脈内投与後にもほとんど影響されなかったにもかかわらず, α -methyl-5-HT (4-32 μ g/kg) による DRC は granisetron 0.01 mg/kg の静脈内投与後には有意に右方移動し, 5-HT の反応と相違を示した (Fig. 5)。この相違の理由を調べるために, 薬物注入後から G_L が最小値となるまでの時間を granisetron の投与前後で比較した (Fig. 7)。 α -methyl-5-HT では反応のピークまでの時間に有意差が認められなかったのに対し, 5-HT では granisetron の投与後に有意に短縮した。この結果は 5-HT による気道収縮の最大反応が起こるべき時点が対照では無呼吸の期間にあり, 計測時点ではピークを過ぎた値であることを示す。5-HT の反応と異なり α -methyl-5-HT の反応は granisetron 後に軽度には減弱したのは, α -methyl-5-HT が選択性の高い 5-HT₂ 作用薬であり, 気管支平滑筋を強く収縮させることから, 30 分の休養期間においても感受性が完全に回復しなかったためと思われる。

3) Vagotomy の影響

モルモットでは 5-HT 誘発気管支収縮反応は vagotomy によりほとんど影響を受けず, atropine により有意に抑制されることから, axon-reflex を介す

る副交感神経活性化によると報告されている⁹⁾。

ラットでは肺内気管支の摘出実験¹⁶⁾で 5-HT の収縮効力は *in vivo* に比べ約 1/50 程度であったこと (*in vivo* では ED₅₀ は約 5×10^{-8} mol/kg, *in vitro* では約 10^{-6} M), 今回の *in vivo* の実験で vagotomy により 5-HT および α -methyl-5-HT の気道抵抗増加反応が強く抑制された事から, 迷走神経 - 迷走神経反射が気管支収縮の強力な増幅機転として重要であることが示された。また, 迷走神経切断後に 5-HT を大量投与すると気道抵抗が増加したことから, モルモットに比べてラットにも弱いながら気道系に対する直接作用があり, これが迷走神経反射によって強力に増幅されたものと思われる。

4) 5-HT による気道収縮のメカニズム

Szarek ら^{17, 18)} はラット単離肺内気管支を用いた実験で, 5-HT による気管支収縮反応には直接作用の他に 5-HT₂ 受容体拮抗薬の ketanserin (3 nM) により有意に抑制される内因性 ACh の遊離を介する間接作用があることを示している。Fig. 8 はラットの右心房内へ bolus 投与した時の 5-HT の気道抵抗増加反応の機序 (仮説) を示したものである。右心房内に投与された 5-HT は, 循環血液中の血小板の活性化を促進すると考えられるが, 血小板の活性化過程で貯蔵 5-HT の遊離が起こることから¹⁹⁾, 内因性 5-HT がさらに血小板活性化を促進する可能性もある。血小板による 5-HT の遊離と取り込みの機序には動物間で差があり, ネコでは 5-HT の遊離により血液凝固が促進されるが, ヒトでは 5-HT の遊離反応を誘発することはないと言われている²⁰⁾, ラットでは不明である。一方, 注入された 5-HT は以下のような一連の反応を引き起こすと思われる; 1) 気管支平滑筋を支配している迷走神経終末から 5-HT₂ 受容体を介して ACh の遊離を起こし, 気管支平滑筋を収縮する。高用量では気管支平滑筋への直接作用もある。2) この気管支収縮は気管支壁を歪め, Widdicombe²¹⁾ が提唱する Hering-Breuer の肺萎縮受容器 (気管支壁に存在する) を興奮させる^{22, 23)}。3) この刺激は反射的に延髄にある気管支運動中枢を興奮させ, 気管支運動神経が興奮する。また, 無呼吸および呼吸抑制による動脈血液中の O₂ 分圧の低下および CO₂ 分圧の上昇も気管支運動中枢を興奮する^{24, 25)}。4) 気管支運動中枢の興奮は迷走神経終末から ACh の遊離を起こす。5) この気管支収縮がさらに気管支壁を歪める。このように positive feedback が起こり, 強い気管支収縮反応を生じるとと思われる (Fig. 8)。この Hering-Breuer の肺萎縮受容器反射を仲介する神経線維のタイプは Widdicombe²¹⁾ により有髄の A β ~ A δ 線維であると報告されている。また, 両側迷走神経切断により 5-HT の気管支抵抗増加反応が強く抑制され, この反応に反射成分が極めて大きく関わっていることから, この反射に関わる

A β ~ A δ 線維上に 5-HT₂ 受容体が存在する可能性もあるが、この線維終末上に 5-HT₂ 受容体が存在するかどうかの組織学的な報告はない。

今回、5-HT による降圧、徐脈、無呼吸反応は Paintal によって報告された juxta-pulmonary capillary receptor (J-receptor)²⁶⁾ が刺激されたためと思われる (Bezold-Jarisch 反射) (Fig. 7). 続く無呼吸中に見られる呼吸興奮は phenylbiguanide でも誘発され (Fig. 2), granisetron 後に消失したことから (Fig. 3), 同じ J-receptor 刺激による可能性もあるが、vagotomy 後にも存続していたことから頸動脈小体および大動脈

小体の化学受容体の興奮による可能性が考えられる。その後続く、気道収縮 (G_L と C_L の減少) は気管支動脈に栄養される気管支平滑筋とそれを支配する迷走神経運動終末や肺伸展受容器、肺萎縮受容器が刺激されたためと思われる。

5) 喘息の病態生理に関わる 5-HT の意義の展望

Sarpogrelate は血小板および血管の 5-HT₂ 受容体に選択的に拮抗し、血小板の凝集および血管の収縮を抑制する^{27, 28)}。静脈内注射などにより外因性に与えた 5-HT は直接血小板凝集および血管平滑筋収縮を生じるが、さらに、血小板に作用して 5-HT の遊離を起こし、これも血小板の凝集および血管の収縮に関与すると思われる。今回の結果から 5-HT は最終的に気道の 5-HT₂ 受容体を介して反射性に強く増幅さ

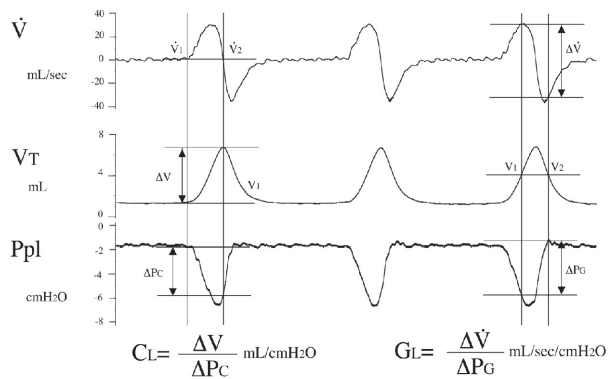


Fig. 1. Method of measuring lung compliance (C_L) and conductance (G_L). Traces from top to bottom are $\dot{V}$ (flow rate), V_T (tidal volume) and Ppl (intrapleural pressure).

Table 1. Reported potency of selected ligands at various 5-HT receptors

Receptor	Agonist	Antagonist
5-HT ₂	α -Methyl-5-HT (7.3)	Granisetron (10.1)
5-HT ₃	Phenylbiguanide (6.8)	
5-HT ₄	Cisapride (7.1)	
	5-MeOT (7.0)	

Agonists: pEC50 values; antagonist: pA2 values. (From Hoyer et al¹⁾)

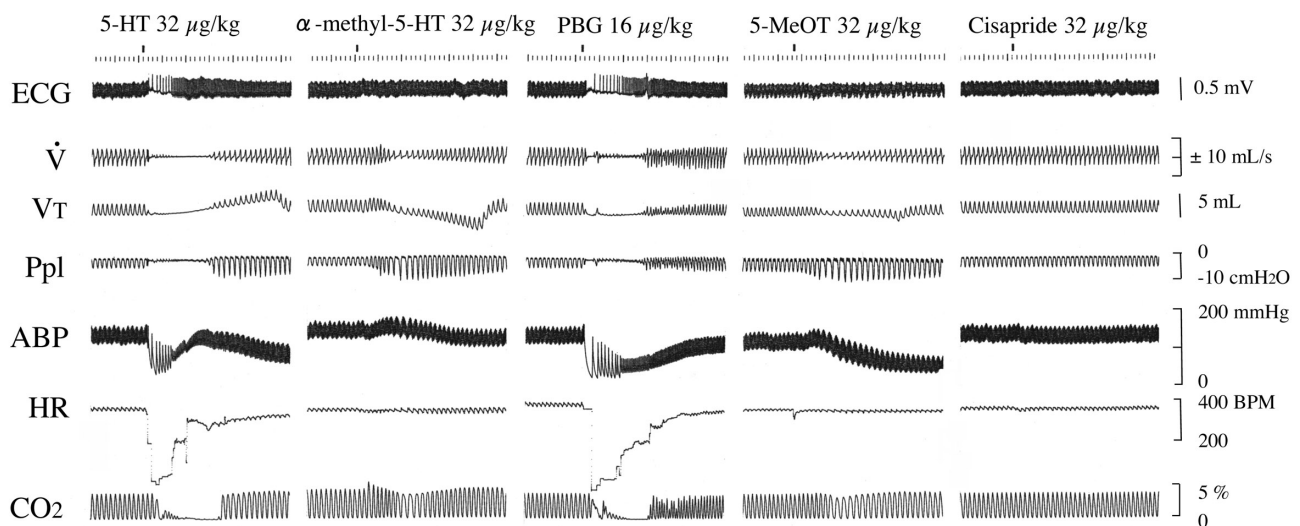


Fig. 2. Effects of intra-right-atrial injection of 5-HT agonists on spontaneous respiration in an anesthetized rat. 5-HT (32 μ g/kg; n=32) and PBG (1-phenylbiguanide : 16 μ g/kg; n=16) induced Bezold-Jarisch reflex. 5-HT, α -methyl-5-HT (32 μ g/kg; n=32) and 5-MeOT (5-methoxytryptamine : 32 μ g/kg; n=12) induced a decreased air flow and an increased intrapleural pressure. Cisapride (32 μ g/kg; n=9) did not induce bronchoconstriction response. Traces from top to bottom are mark of injection, time scale (sec), electrocardiogram (ECG), flow rate ($\dot{V}$), tidal volume (V_T), intrapleural pressure (Ppl), arterial blood pressure (ABP), heart rate (HR) and end tidal CO₂ (CO₂), respectively.

れる気管支平滑筋収縮を誘発することが確認された。非発作時の喘息患者では血液中の遊離 5-HT 濃度が健康者の正常値より 8 倍程度高く²⁹⁾、喘息の発作時にはさらに高い値を示すと報告されている³⁰⁾。また 5-HT に対する気道反応性も、喘息患者では抗コリン薬の ipratropium などにより抑制されるような迷走神経反射過敏状態が加わって有意に高いことが知られて

いる³¹⁾。ヒト血清中の 5-HT は主に血小板由来であり、活性化の過程で血小板から放出された血清中の 5-HT を血小板が再度取り込み、細胞内顆粒へ貯蔵することが知られている³²⁾。喘息患者の血小板では、5-HT の絶対的または相対的な取り込み能の低下など何らかの機能異常が存在すると思われる³⁰⁾。一方、carcinoid 症候群および気管支 carcinoid では carcinoid tumor から分

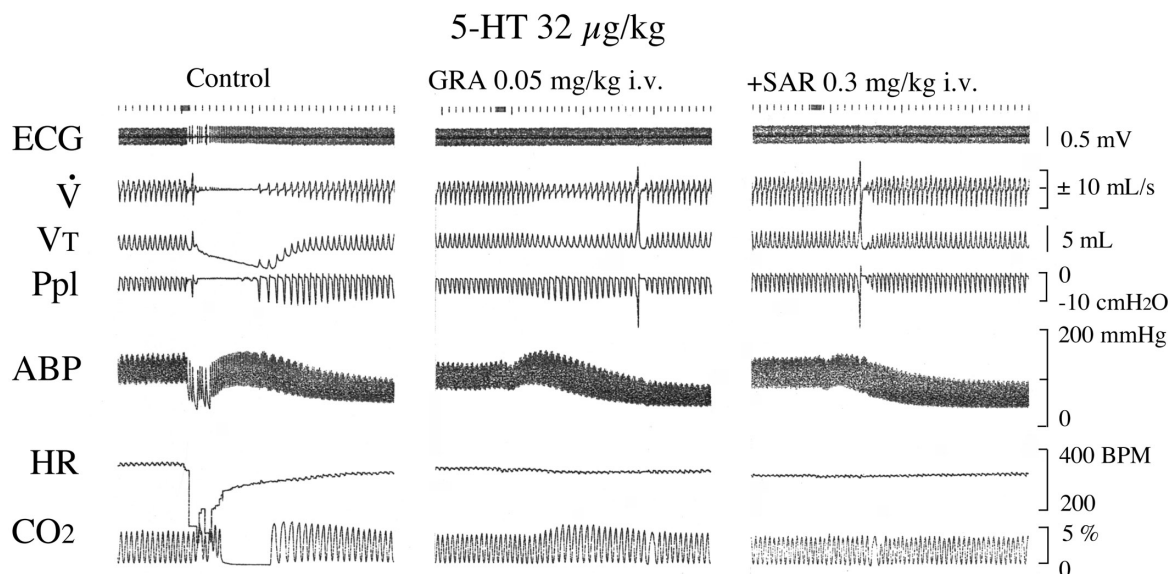


Fig. 3. Effects of granisetron (0.05 mg/kg i.v.) and succeeding sarpogrelate (0.3 mg/kg i.v.) administration on 5-HT-induced response. 5-HT (32 μ g/kg i.r.a) was administered at the mark bar in time scale. 5-HT-induced Bezold-Jarisch reflex was abolished after granisetron (0.05 mg/kg i.v.), but the bronchoconstriction response was persisted. The remained bronchoconstriction was disappeared following sarpogrelate (0.3 mg/kg i.v.). Tracings are the same as Fig. 2.

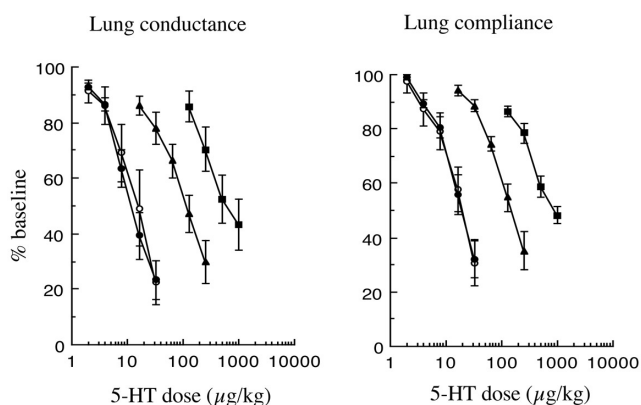


Fig. 4. Effects of granisetron (0.05 mg/kg) and sarpogrelate (0.3 and 1.0 mg/kg) on 5-HT-induced decrease of lung conductance and compliance. Symbols indicate control response (open circle), after injection of granisetron 0.05 mg/kg (closed circle), after subsequent sarpogrelate 0.3 mg/kg (closed triangle) and 1.0 mg/kg (closed square). Each dose-response curve of 5-HT-induced decrease in lung conductance or compliance was shifted to the rightwards by sarpogrelate (0.3 and 1.0 mg/kg) in a dose-related manner, but not by granisetron (0.05 mg/kg). Each point represents mean and S.E. of responses of six experiments.

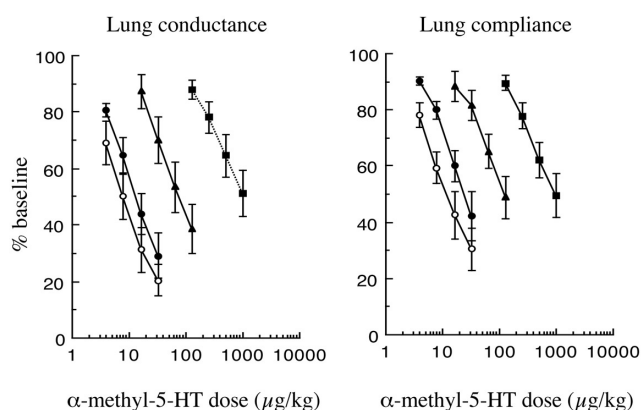


Fig. 5. Effects of granisetron (0.01 mg/kg) and sarpogrelate (0.3 and 1.0 mg/kg) on α -methyl-5-HT-induced decrease of lung conductance or compliance. Symbols are the same as Fig. 4. Dose-response curves of α -methyl-5-HT-induced decrease in lung conductance and compliance were significantly shifted to the rightwards by granisetron (0.05 mg/kg), and shifted to the rightwards by subsequent sarpogrelate (0.3 and 1.0 mg/kg) in a dose-related manner. Each point represents mean and S.E. of responses of six experiments.

泌される 5-HT が喘息様症状を呈することが知られている³³⁾。一方、喘息モデル動物を使った実験でも、抗原で生じた気道過敏性に 5-HT が一部関与する事を示唆している³⁴⁾。最近、5-HT の uptake-enhancing drug が喘息の治療薬として小児喘息で効果的であるとの報告もある³⁵⁾。以上のことから、喘息症状の緩和には血小板活性化の抑制または気道の 5-HT₂ 受容体の遮断も有効性を発現し得る可能性が考えられる。今回、ラットでは sarpogrelate の 0.3 または 1.0 mg/kg の静脈内注射により、5-HT が誘発した気道収縮反応に対し競合的に

拮抗する事が示された。この用量はヒトで慢性動脈閉塞症 (ASO) などに臨床的に用いられる用量の 1/6 ~ 1/2 に相当する³⁶⁾。このことから、低用量の sarpogrelate の投与により血小板活性化が低下し、喘息患者における気管支収縮を軽減することが期待される。また、喘息患者の安静期に用いることにより、喘息発作の誘発の発生頻度の軽減が期待される。これらの臨床応用の可能性については例えば ASO を随伴する喘息患者などにおいて検証されるべきであろう。

Table 2. Calculated ED₅₀ values of 5-HT- or α -methyl-5-HT-induced decrease of G_L and C_L

5-HT (n=6)	G _L	C _L
only 5-HT	20.93 $\pm$ 5.18	24.40 $\pm$ 4.55
+ GRA 0.05 mg/kg	19.71 $\pm$ 3.66	24.98 $\pm$ 3.12
+ SAR 0.3 mg/kg	169.44 $\pm$ 16.12*	192.12 $\pm$ 17.44*
+ SAR 1.0 mg/kg	1033.16 $\pm$ 288.63*	968.13 $\pm$ 74.64*
α -methyl-5-HT (n=6)	G _L	C _L
only α -methyl-5-HT	6.11 $\pm$ 2.44	13.34 $\pm$ 2.21
+ GRA 0.05 mg/kg	17.85 $\pm$ 4.99*	25.26 $\pm$ 4.33*
+ SAR 0.3 mg/kg	98.40 $\pm$ 37.38*	119.08 $\pm$ 26.09*
+ SAR 1.0 mg/kg	1250.93 $\pm$ 370.75*	1042.33 $\pm$ 256.94*

The tested values represent mean $\pm$ SEM (μ g/kg)

* p<0.05 vs only 5-HT or α -methyl-5-HT.

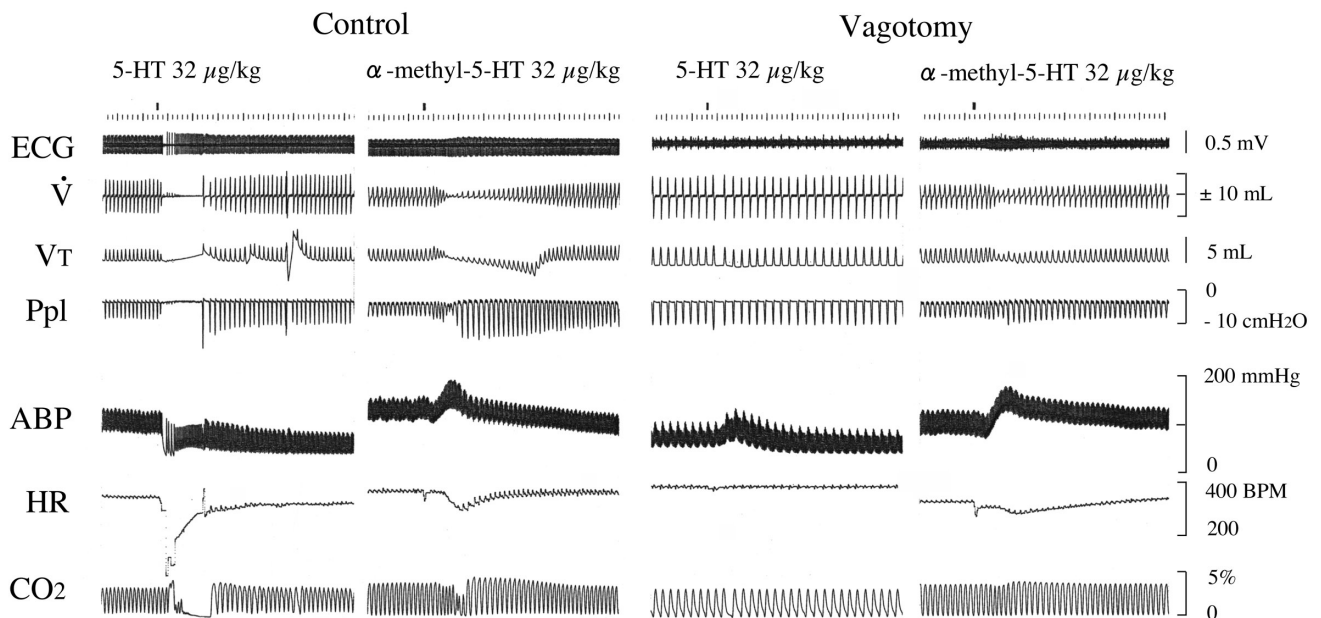


Fig. 6. Effect of vagotomy on 5-HT- and α -methyl-5-HT-induced responses. 5-HT or α -methyl-5-HT (32 μ g/kg i.r.a) was administered at the mark bar. 5-HT-induced Bezold-Jarisch reflex was abolished, and 5-HT- or α -methyl-5-HT-induced bronchoconstriction was more or less strongly inhibited after bilaterally cervical vagotomy. But, the bronchoconstriction responses persisted at least to a small extent. Tracings are the same as Fig. 2.

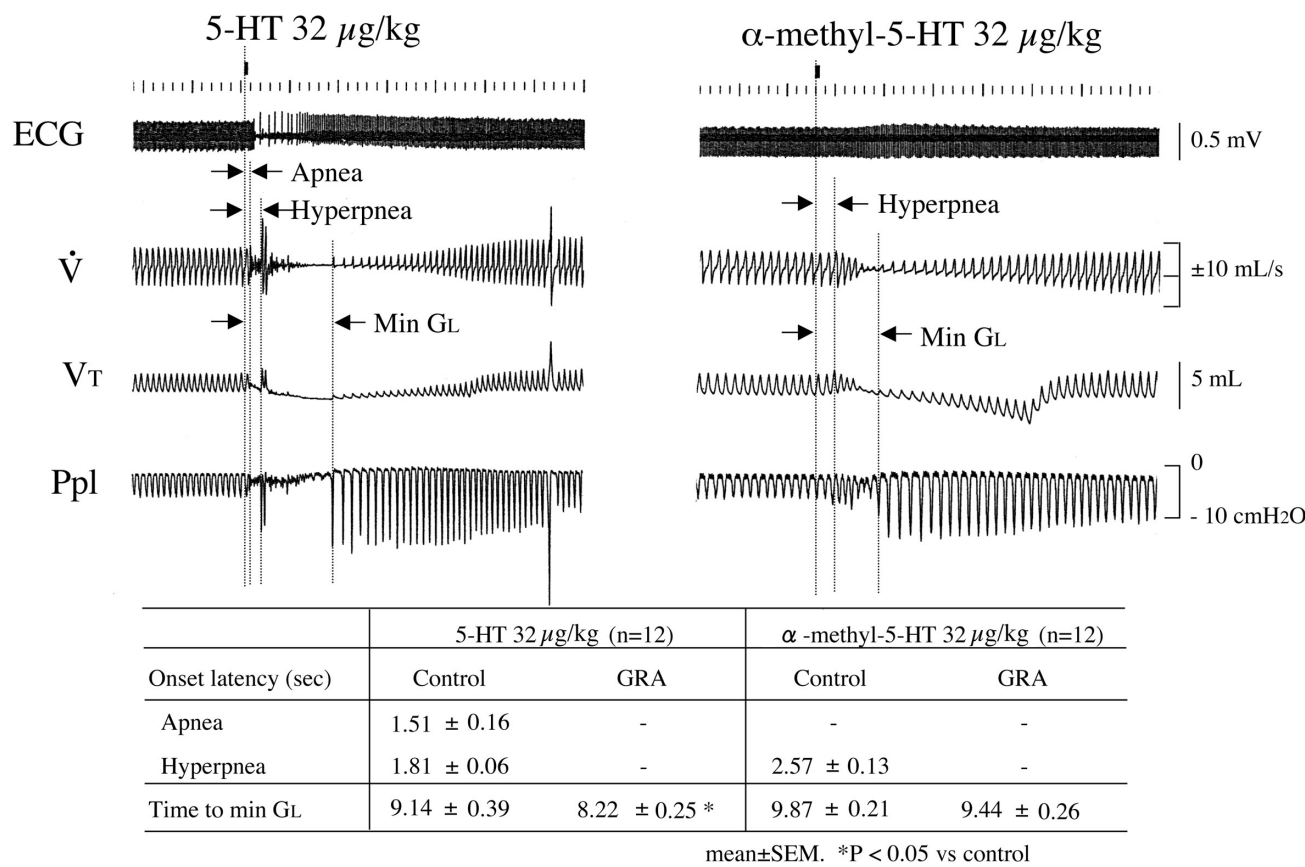


Fig. 7. Measuring of onset latency of apnea and hyperpnea, and time lag to minimum G_L. 5-HT or α -methyl-5-HT (32 $\mu\text{g/kg}$) was administered in the right atrium at the marking bars.

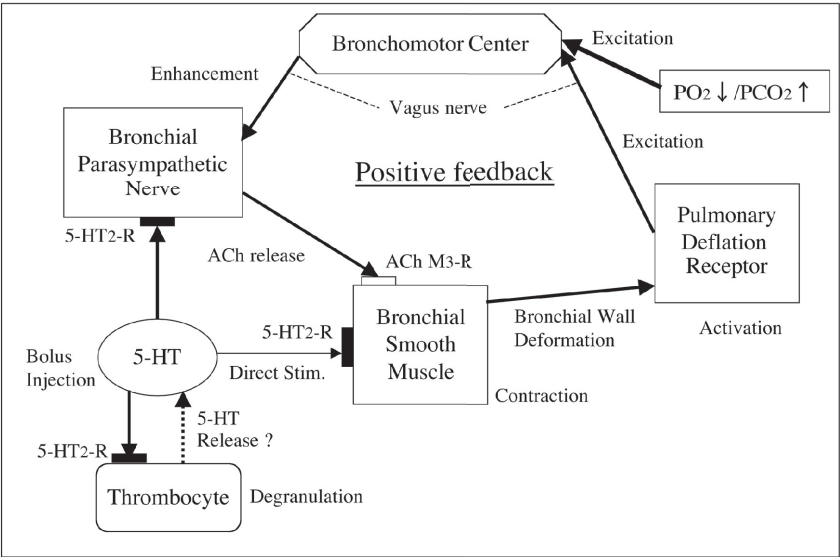


Fig. 8. Hypothetical mechanisms of 5-HT-induced bronchoconstriction in rats. Bolus injection of 5-HT may induce a release of 5-HT from the thrombocyte. Both the exogenous and endogenous 5-HT will induce a release of ACh from the bronchial parasympathetic nerve terminals via 5-HT₂ receptors. 5-HT may also induce a direct contraction of bronchial smooth muscle at higher concentrations. 5-HT-induced bronchoconstriction would activate pulmonary deflation receptors, and thereby reflexly excite the bronchomotor center in medulla oblongata, then enhance the bronchial parasympathetic nerve. PO₂ ↓ / PCO₂ ↑ may also excite the bronchomotor center. These can together induce an enhanced release of ACh. In this way, a positive feedback mechanism could enforce the 5-HT-induced bronchoconstriction.

結 論

本研究において、5-HTにより誘発された気道抵抗増加反応は5-HT₂受容体作用薬の α -methyl-5-HTでも同様に生じ、5-HT₃受容体作用薬のphenylbiguanideおよび5-HT₄受容体作用薬のcisaprideでは誘発されなかった。また、この気道収縮反応は両側頸部迷走神経の切断により強く抑制され、5-HT₂受容体遮断薬のsarpogrelateにより用量依存的に拮抗されたことから、5-HT₂受容体を介する反射性の反応であることが示された。また、vagotomy後に5-HTを大量投与すると軽度の気管支収縮が観察されたことから、気道系への直接作用が反応の引き金になることが解った。反応潜時の計測により、気道抵抗増加反応を生じる5-HTの作用点は気管支動脈床であることが示唆された。Sarpogrelateは低用量で5-HT誘発気管支収縮を抑制したことから、喘息患者、特にcarcinoid症候群に併発されるような5-HT感受性喘息患者の発作予防にも有望であると思われる。

謝 辞

稿を終えるに当たり、御指導、御校閲を賜りました埼玉医科大学薬理学教室丸山敬教授に謝意を表します。また、終始ご指導を賜りました元埼玉医科大学薬理学教室酒井悠次教授に感謝いたします。用いた試薬に関しては提供していただいた三菱東京製薬株式会社および協和発酵工業株式会社に感謝します。

引用文献

- Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, et al. VII. International union of pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine(serotonin). *Pharmacol Rev* 1994;46:157-203.
- Black AMS, Comroe JH Jr, Jacobs L. Species difference in carotid body response of the cat and dog to dopamine and serotonin. *Am J Physiol* 1972;223:1097-102.
- Jacobs L, Comroe JH Jr. Reflex apnea, bradycardia and hypotension produced by serotonin and phenyldiguanide acting on the nodose ganglia of the cat. *Circ Res* 1971;29:145-55.
- Zucker IH, Cornish KG. Reflex cardiovascular and respiratory effects of serotonin in the conscious and anesthetized dogs. *Circ Res* 1980;47:509-15.
- Bisgard GE, Mitchell RA, Herbert DA. Effects of dopamine, norepinephrine and 5-hydroxytryptamine on the carotid body of the dog. *Resp physiol* 1979;37:61-80.
- Sapru HN, Krieger AJ. Effect of 5-hydroxytryptamine on the peripheral chemoreceptors in the rat. *Res Com Chem Pathol Pharmacol* 1977;16:245-50.
- Tanaka M, Sakai Y. 5-HT₃ receptor activation produces pulmonary C-fiber reflex in rats and rabbits, but not in dogs. *Jpn J Pharmacol* 1994;64 Suppl 1:148.
- Rhodes KF, Coleman J, Lattimer N. A component of 5-HT-evoked depolarization of the rat isolated vagus nerve is mediated by a putative 5-HT₄ receptor. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1992;346:496-503.
- Macquin-Mavier I, Jarreau P-H, Istaiti N, Harf A. 5-Hydroxytryptamine-induced bronchoconstriction in the guinea-pig: effect of 5-HT₂ receptor activation on acetylcholine release. *Br J Pharmacol* 1991;102:1003-7.
- 合田由紀子. セロトニン誘発呼吸抑制の換気力学的解析. *北海道医学雑誌* 1993;68:29-41.
- Macklem PT, Mead J. Resistance of central and peripheral airways measured by a retrograde catheter. *J Appl Physiol* 1967;22:395-401.
- Amdur MO, Mead J. Mechanics of respiration in unanesthetized guinea pig. *Am J Physiol* 1958;192:364-8.
- Ginzei KH, Kottegoda SR. The action of 5-hydroxytryptamine and tryptamine on aortic and carotid sinus receptors in the cat. *J Physiol(Lond)* 1954;123:277-88.
- Alabaster VA, Bakhle YS. Removal of 5-hydroxytryptamine in pulmonary circulation of rat isolated lung. *Br J Pharmacol* 1970;40:468-82.
- Paintal AS. Impulses in vagal afferent fibres from specific pulmonary deflation receptors. The response of these receptors to phenyl diguanide, potato starch, 5-hydroxytryptamine and nicotine, and their role in respiratory and cardiovascular reflexes. *Quart J exp Physiol* 1955;40:89-111.
- Hara H, Osakabe M, Kitajima A, Tamao Y, Kikumoto R. MCI-9042, a new antiplatelet agent is a selective S₂-serotonergic receptor antagonist. *Thromb Haemostas* 1991;65:415-20.
- Szarek JL, Zhang JZ, Gruetter CA. Mechanisms of 5-hydroxytryptamine-induced contraction of isolated rat intrapulmonary bronchi. *Pulmonary Pharmacol* 1995;8:273-81.
- Szarek JL, Zhang JZ, Gruetter CA. 5-HT₂ receptors augment cholinergic nerve-mediated contraction of rat bronchi. *Eur J Pharmacol* 1993;231:339-46.
- Holmsen H. Platelet activation and serotonin.

- In: Vanhoutte PM, editor. Serotonin and the Cardiovascular System. New York: Raven Press; 1985.p.75-86.
- 20)Born GVR, Michal F. 5-Hydroxytryptamine receptors of platelets. Ciba Found Symp.1975;35: 287-307.
- 21)Widdicombe JG. Respiration reflexes. In: Handbook of Physiology. Respiration, edited by Fenn WO, Rahn H. Washington DC: Am Physiol Soc 1964;sect 3:vol 1:chapt 24:585-630.
- 22)Sampson SR, Vidruk EH. Properties of 'irritant' receptors in canine lung. Respir Physiol 1975;25: 9-22.
- 23)Sellick H, Widdicombe JG. Vagal deflation and inflation reflexes mediated by lung irritant receptors. Quart J Exp Physiol 1970;55:153-63.
- 24)Waldron MA, Fisher JT. Differential effects of CO₂ and hypoxia on bronchomotor tone in the newborn dog. Respir Physiol 1988;72:271-82.
- 25)Iscoe S, Fisher JT. Bronchomotor responses to hypoxia and hypercapnia in decerebrate cats. J Appl Physiol 1995;78:117-23.
- 26)Paintal AS. Mechanism of stimulation of type J pulmonary receptors. J Physiol 1969;203:511-32.
- 27)磯貝行秀, 横瀬琢男, 池本卓, 前田俊彦, 秋山雅昭. 健常人における塩酸サルボグレラート (MCI-9042) の血小板凝集抑制作用. 臨床医薬 1991;7:1227-33.
- 28)原啓人, 越阪部正徳, 山田久美, 中尾健一郎, 玉尾嘉邦. 血管収縮反応に対する塩酸サルボグレラートの作用. 薬理と治療 1991;19:s-611-8.
- 29)Lechin F, Dijs B, Orozco B, Lechin M, Lechin AE. Increased levels of free serotonin in plasma of symptomatic asthmatic patients. Ann Allergy Asthma Immunol 1996;77:245-53.
- 30)角南宏二. 気管支喘息の血小板機能に関する研究. 第1編—喘息患者血小板の形態変化とセロトニン遊離機能の検討. 岡山医誌 1992;104:1069-78.
- 31)Michelson AL, Hollander W. The effect of serotonin on respiration in asthmatic and non-asthmatic subjects. J Clin Invest 1956;35:724.
- 32)Rand MJ, Reid G. Source of serotonin in serum. Nature 1951;168:385.
- 33)Kulke MH, Mayer RJ. Carcinoid tumors. N Engl J Med 1999;340:858-68.
- 34)De Bie JJ, Henricks PAJ, Cruikshank WW, Hofman G, Jomker EH, Nijkamp FP, et al. Modulation of airway hyperresponsiveness and eosinophilia by selective histamine and 5-HT receptor antagonists in a mouse model of allergic asthma. Br J Pharmacol 1998;124:857-64.
- 35)Lechin F, von der Dijs B, Orozco B, Jara H, Rada I, Lechin ME, et al. The serotonin uptake-enhancing drug tianeptine suppresses asthmatic symptoms in children: a double-blind, crossover, placebo-controlled study. J Clin Pharmacol 1998;38:918-25.
- 36)古川欽一, 田邊達三, 三島好雄, 坂口周吉, 塩野谷恵彦, 吉崎聡, 他. 塩酸サルボグレラート (MCI-9042) の慢性動脈閉塞症に対する臨床効果 - 前期第Ⅱ相臨床試験 -. 臨床医薬 1991;7:1193-204.