

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07976

研究課題名(和文) 苦味受容体TAS2Rの咳感受性調節機構

研究課題名(英文) Modulation of cough reflex by taste 2 receptors

研究代表者

亀井 淳三 (Kamei, Junzo)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40161236

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：慢性咳嗽の発症機序には少なくとも二つある。一つは気道の咳受容体の感受性亢進による機序であり、アトピー咳嗽や胃食道逆流による咳嗽などが該当する。もう一つは気道平滑筋の収縮がトリガーとなって咳感受性が亢進する機序で、咳喘息やCOPDの咳嗽が該当する。本研究では、これまで咳反射との関連が示されていないTAS2R受容体に着目し、A線維の終末受容体RARs、いわゆる咳受容体の気道収縮による興奮性調節に参与する神経経路の解明を試みた。その結果、TR2R受容体作動薬は、カリウムチャネルの一つであるATP感受性K⁺チャネルを介して気道平滑筋収縮に伴う咳感受性の亢進を抑制することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：There are at least two mechanisms for the development chronic coughs. One is the enhanced excitability of cough receptors which caused an atopic cough. Another is contraction of the airway smooth muscle which caused cough variant asthma COPD. The aim of this study is to elucidate the Taste 2 receptors (TAS2R) mediated-neuronal networks which involved in the modulation of the excitability of cough receptor by airway contraction. The results of this research suggest that TR2R receptor activation may inhibit the airway contraction-induced cough hypersensitivity through the ATP-sensitive K⁺ channels.

研究分野：薬理学・薬物治療学

キーワード：苦味受容体 咳嗽反射 気道収縮

1. 研究開始当初の背景

味覚受容体はいずれも、Gタンパク質共役受容体に属している。なかでも苦味を受容するTAS2R (taste receptor type-2) は舌のみならず、肺、喉頭蓋や喉頭など気道細胞上に発現し、その生理的役割として気道平滑筋弛緩作用がある。また、TAS2Rを介した気道平滑筋弛緩作用にはlarge conductance calcium-activated K⁺ channel (BKca) の活性化が関与している。

8週間以上継続する慢性咳嗽を訴えて医療機関を受診する患者が増加し、慢性咳嗽に関する関心が高まって来ているが、有用な治療薬は少ない。気道に対する咳刺激はA δ 線維により咳反射の中樞へ伝えられる。この神経の終末受容体がいわゆる咳受容体の1つであるRARs (rapidly adapting receptors)で、気道上皮に存在するRARsは粘液などの機械的な刺激による直接的な刺激や、C線維終末から放出されるタキキニンなどにより刺激される。慢性咳嗽の発症機序には少なくとも二つある。一つは気道の咳受容体の感受性亢進による機序であり、アトピー咳嗽や胃食道逆流による咳嗽などが該当する。もう一つは気管支平滑筋の収縮がトリガーとなって咳感受性が亢進する機序で、咳喘息やCOPDの咳嗽が該当する。申請者はこれまでに咳受容体感受性亢進機序に関して、TRPV1受容体や電位依存性Na⁺チャネルなどを介したC線維の興奮によるRARsの刺激閾値の低下が重要であることを明らかにしている。また、申請者らはRARsが気道平滑筋内にも存在し、平滑筋の収縮という機械的刺激をトリガーとして、咳を誘発することも示唆している。しかし、その咳感受性亢進機序は不明である。また、予備実験段階ではあるが、申請者はRARs阻害薬を用いてRARsを繰返し阻害することで、気道収縮性が亢進するとともに、咳感受性が亢進した動物モデル (RARs感受性亢進モデル) を作成している。

TAS2Rを介した気管支平滑筋弛緩作用に関与

することが示唆されているBKcaと咳嗽反射との関連として、BKca開口薬がA δ 線維の活動電位を抑制するとともに、クエン酸誘発咳嗽を抑制することが報告されている。したがって、COPDや咳喘息などの慢性咳嗽モデル動物におけるTAS2Rの機能変化をBKcaの機能変化と関連づけて検討することで、気管支平滑筋の収縮がトリガーとなる咳感受性の亢進機序を明らかにすることが可能となり、慢性咳嗽の病態に応じたより有効な治療法を解明する糸口となる。

咳嗽は、気道内の異物や分泌物を体外へ喀出するための生理的咳嗽である湿性咳嗽と、咳嗽のみが一時的に起こり苦痛となる病的咳嗽である乾性咳嗽に分類される。慢性咳嗽として問題になる乾性咳嗽の原因には、咳受容体の感受性亢進と気管支平滑筋収縮の亢進の2つがある。咳受容体の感受性亢進を主因とするものとして、アトピー咳嗽やアンギオテンシン変換酵素阻害薬による咳嗽などが挙げられ、気管支平滑筋収縮の亢進を主因とするものには咳喘息や喘息が該当する。咳嗽反射の発現には気道におけるC線維およびA δ 線維が重要な役割を果たしており、A δ 線維が中樞への伝達経路と考えられている。このA δ 線維の神経終末受容体がRapidly Adapting Receptors (RARs) と呼ばれており、気道上皮においては粘液などの機械的刺激やクエン酸などの化学的な刺激を受容する。またこのRARsは気道平滑筋の中あるいは周囲にも存在すると考えられており、平滑筋の収縮により刺激され咳嗽反応を惹起する。気管支平滑筋収縮を主因とする咳反射亢進に咳受容体の感受性変化は関与しないが、その咳感受性亢進機序の詳細は明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、気管支平滑筋収縮を主因とした咳反射亢進機序を明らかにする一環で、RARs阻害薬であるmoguisteineの繰返し投与

により認められる咳感受性亢進と気道反応性の関与を検討し、この咳感受性亢進と気管平滑筋の緊張を調節することが知られている苦味受容体作動薬の影響を検討した。

3. 研究の方法

実験には、6週齢のICR系雄性マウスを使用した。マウスにクエン酸 (100 および 250 mM)、カプサイシン (15 および 45 μ M) またはメサコリン (1.5 mM) を3分間吸入させ、この間に誘発される咳嗽数を body-plethysmograph 法に従い測定した。RARs 阻害薬である moguisteine (3 mg/kg)、ATP 感受性 K^+ チャネル開口薬 cromakalim (1 mg/kg) および ATP 感受性 K^+ チャネル阻害薬 glibenclamide (10 mg/kg) は1日1回6日間腹腔内投与し、咳嗽数の測定は moguisteine 最終投与の24時間後に行った。Moguisteine (3 mg/kg, i.p.) の単回投与群は投与前および投与30分後に咳嗽数を測定した。苦味受容体作動薬である denatonium (0.3 mM) は咳嗽測定の直前に4分間吸入させた。 β_2 受容体作動薬である terbutaline (0.3 mg/kg) は咳嗽測定の1時間前に投与した。 β_2 受容体脱感作モデルは、鎮咳効果が認められる用量の β_2 受容体作動薬 procaterol (100 μ M) を1日2回6日間4分間吸入させ、terbutaline (3 mg/kg) を処置しても鎮咳効果の認められないマウスを用いた。また、平滑筋収縮力を測定するため、moguisteine を連続投与したマウスをウレタン麻酔下で開胸し、気道平滑筋を摘出した。この標本を5 mLの栄養液 (Krebs 液) を満たしたオルガンバス (37 °C, 95% O_2 ・5% CO_2 混合ガス飽和) 中に0.8 gの負荷をかけ懸垂し、ポリグラフ上に等尺性に記録を行った。アセチルコリン (10^{-7} – 10^{-3} M) を累積的に添加して濃度反応曲線を作成した。

4. 研究成果

Moguisteine (3 mg/kg, i.p.) の単回投与はクエン酸 (250 mM) およびカプサイシン (45 μ M)

誘発咳嗽数を有意に減少させた。一方で、moguisteine (3 mg/kg) の繰返し投与はクエン酸 (100 mM) およびメサコリン (1.5 mM) 誘発咳嗽数を有意に増加させたものの、カプサイシン (15 μ M) 誘発咳嗽数では有意な変化は認められなかった。Moguisteine (3 mg/kg) の繰返し投与によって増加したクエン酸 (100 mM) 誘発咳嗽数は、鎮咳効果を示す用量の10倍の濃度の moguisteine (30 mg/kg) を投与しても有意な変化が認められなかった。したがって、moguisteine (3 mg/kg) 繰返し投与で認められる咳感受性の亢進は、咳受容体の感受性亢進によるものではないと考えられる。そこで、moguisteine (3 mg/kg) を繰返し投与したマウス、および対照群マウスから摘出した気管平滑筋のアセチルコリンに対する反応性を検討した。その結果、対照群と比べて、moguisteine (3 mg/kg) を繰返し投与した群のアセチルコリンに対する反応性が増強していた。一方で、未処置のマウスから摘出した気管平滑筋に moguisteine を処置しても平滑筋収縮力に変化は認められなかった。以上の結果から、moguisteine は単回処置を行っても気管平滑筋の反応性に変化を与えないものの、繰返し処置することによって気管平滑筋の反応性を増強させていることが考えられる。

これまでの研究結果より、moguisteine の鎮咳作用に ATP 感受性 K^+ チャネルの開口作用が関与していることが知られている。そこで、moguisteine 繰返し投与による咳感受性亢進に対する ATP 感受性 K^+ チャネル関与を検討した。まず、ATP 感受性 K^+ チャネル開口薬の cromakalim (1 mg/kg) を繰返し投与したところ、moguisteine と同様にクエン酸誘発咳嗽数が有意に増加した。さらに、moguisteine (3 mg/kg) と同時に ATP 感受性 K^+ チャネル阻害薬 glibenclamide (10 mg/kg) を1日1回6日間投与したところ、glibenclamide の溶媒を投与した群ではクエン酸誘発咳嗽数の有意な

増加が認められたものの、glibenclamide を投与した群では有意な変化は認められなかった。この結果から、moguisteine 繰返し投与で認められる咳感受性の亢進には ATP 感受性 K^+ チャネルが重要な役割を果たすことが示された。次に、気管平滑筋の緊張を調節することが報告されている苦味受容体 (TR2R) 作動薬 denatonium の鎮咳効果を検討する目的で、メサコリン (1.5 mM) 誘発咳嗽に対する denatonium および terbutaline の効果を検討した。その結果、denatonium および terbutaline はそれぞれ、気管平滑筋の収縮を主因とするメサコリン (1.5 mM) 誘発咳嗽数を有意に減少させたことから、TR2R 作動薬は気管平滑筋の収縮を抑制することで鎮咳効果を示すことがわかった。そこで、moguisteine 繰返し投与により増加したクエン酸 (250 mM) 誘発咳嗽に対する terbutaline および denatonium の効果を検討したところ、両者とも有意に咳嗽数を減少させた。そこで、TR2R 作動薬の鎮咳機序をさらに詳しく検討する目的で、procaterol (100 μ M) を繰返し吸入させることで β_2 受容体を脱感作させ、moguisteine (3 mg/kg) の繰返し投与によって増加したクエン酸誘発咳嗽数に対する denatonium の効果を検討した。その結果、対照群では terbutaline および denatonium は両者とも咳嗽数を有意に減少させるものの、 β_2 脱感作群では terbutaline の処置を行っても有意な変化は認められないものの、denatonium の処置は有意にクエン酸誘発咳嗽数を減少させた。以上の結果から、TR2R 作動薬および β_2 作動薬はそれぞれ異なる経路を介して気管平滑筋の収縮を抑制することにより、moguisteine 繰返し投与で認められる咳感受性の亢進を抑制することが明らかになった。

本研究の結果から、moguisteine 繰返し投与で認められる咳感受性の亢進には ATP 感受性 K^+ チャネルが重要な役割を果たすことが示された。さらに、TR2R 作動薬および β_2 受

容体作動薬は、それぞれ異なる経路を介して気管平滑筋収縮を抑制することで、気管平滑筋の反応性増強に伴う咳感受性亢進を抑制することが示唆された。また、TR2R 受容体作動薬は ATP 感受性 K^+ チャネルが重要な役割を果たすことを明らかにした moguisteine 繰返し投与で認められる咳感受性の亢進を抑制したことから、TR2R 受容体作動薬は、本実験計画考案時に想定した BKca チャネルではなく ATP 感受性 K^+ チャネルを介して気道平滑筋収縮に伴う咳嗽反射を抑制することが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

亀井淳三、Moguistein 繰返し投与で認められる咳感受性亢進機序の解明、第 91 回日本薬理学会年会 (2016 年 3 月)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

亀井 淳三 (KAMEI, Junzo)

星薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：4 6 1 6 1 2 3 6

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：

(4)研究協力者
()