

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月13日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23650411

研究課題名（和文）温泉成分である硫化水素は気管支喘息治療に有効か？

研究課題名（英文）Is hydrogen sulfide effective for asthma treatment?

研究代表者

水田 健太郎（MIZUTA KENTARO）

東北大学・大学院歯学研究科・講師

研究者番号：40455796

研究成果の概要（和文）：

硫化水素の投与により、気管平滑筋収縮作用が抑制されるか、またMAP kinaseリン酸化抑制作用が生じるかについて解析した。その結果、アセチルコリン投与により生じるモルモット気管平滑筋収縮作用は、硫化水素のドナーである硫化水素ナトリウムの投与により有意に抑制された。また、ヒト気管平滑筋細胞におけるERKリン酸化は、硫化水素ナトリウム投与により抑制された。

研究成果の概要（英文）：

We examined whether hydrogen sulfide inhibits contraction and MAP kinase phosphorylation in airway smooth muscle. NaSH, a donor of hydrogen sulfide, significantly inhibited acetylcholine-stimulated guinea pig airway smooth muscle contraction. In addition, NaSH inhibited ERK phosphorylation in human airway smooth muscle cells.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康 スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：硫化水素、気管支喘息、気道リモデリング、気管平滑筋

1. 研究開始当初の背景

気管支喘息の主病態は、気管平滑筋の可逆的収縮と気道炎症であり、気道炎症の慢性化は気管平滑筋層を肥厚させ、不可逆性の気道狭窄、すなわち気道リモデリングをもたらす。これらの症状のコントロールや喘息発作頻度の軽減を目的に、アドレナリンβ₂受容体作動薬、抗コリン薬、抗ヒスタミン薬、ステロイド等が用いられているが、いずれも治療の決定打とは言えず、新たな気管支喘息治療法が模索されている。

一方、世界有数の温泉湧出量を誇る我が国では、古代から温泉療法が疾病治療の有効な手段であった。中でも硫化水素泉は、呼吸器系疾患、特に気管支喘息に効能があるとされてきた。

近年、硫化水素泉の主成分である硫化水素が、低濃度では可逆性に生体内代謝を低下させ、「冬眠様効果（suspended animation-like effect）」をもたらすことが明らかとなり、CO、NOに続く第3の生体内ガス状トランスミッターとして注目を集

めている。硫化水素は、生体内代謝の低下を通じて、低体温の誘導、炎症性細胞浸潤／炎症性サイトカイン分泌を抑制するため、特に炎症の伸展阻止に有効とされている。また硫化水素は、気管平滑筋に類似した構造と機能を有する血管平滑筋の弛緩作用を併せ持つ。

これらの知見は、気管支喘息の温泉療法においても、吸入／飲用された低濃度硫化水素が、気道に作用して気管平滑筋を弛緩させたり、炎症性反応の抑制を介して気道リモデリングを阻止する可能性を示唆している。

本研究では、硫化水素が生体内においてガス状トランスミッターとして作用し、気管支喘息の主病態である気管平滑筋収縮、気道リモデリングを抑制するかについて検討を行った。

2. 研究の目的

- (1) 硫化水素の気管平滑筋弛緩作用の解明
- (2) 硫化水素による気道リモデリング作用の解明

3. 研究の方法

- (1) 硫化水素の気管平滑筋弛緩作用の解明
- ① 硫化水素による気管平滑筋弛緩作用の解明 (オーガンバス法)

気管支喘息発作時の気管平滑筋収縮は、気管平滑筋上に存在するムスカリンM3受容体やヒスタミンH₁受容体などのGq蛋白共役型受容体を介して主に生じる。そこで、アセチルコリン (ムスカリンM₃受容体作動薬) 刺激により生じるモルモット気管平滑筋収縮作用が、硫化水素のドナーである硫化水素ナトリウム (NaSH; 10 μM-5 mM) の投与により抑制されるかを、オーガンバスに浸漬したモルモット気管輪の等尺性張力を測定することで解析した。

- ② 硫化水素による細胞内Ca²⁺濃度上昇抑制機構の検討 (*in vitro*)

気管平滑筋収縮は細胞内Ca²⁺濃度上昇、すなわち、細胞外Ca²⁺流入 (電位依存性Ca²⁺チャネル、細胞内Ca²⁺ストア作動性Ca²⁺チャネル) もしくは、イノシトール3リン酸 (IP₃) を介した

細胞内Ca²⁺ストア (筋小胞体) からのCa²⁺放出により生じる。

そこで、硫化水素のドナーである硫化水素ナトリウムをヒト気管平滑筋細胞に前投与した場合、アセチルコリン投与で生じる IP₃ 生合成、細胞内 Ca²⁺濃度上昇作用を抑制させるか、また細胞内 Ca²⁺上昇機構のいずれのプロセスを抑制するののかについて、細胞内 Ca²⁺イメージング法で測定した。

- (2) 硫化水素による気道リモデリング作用の解明

気道リモデリングは、気管平滑筋細胞内でのMAP kinaseの活性化を介して生じるとされる。MAP kinaseは、growth factorによる刺激や、G_q蛋白共役型受容体刺激により生じる。

そこで、ヒト気管平滑筋細胞への硫化水素ナトリウム投与が、アセチルコリン投与で生じるMAP kinase刺激作用を抑制するかを、Western blot法で測定した。

4. 研究成果

- (1) 硫化水素の気管平滑筋弛緩作用の解明
- ① アセチルコリン (EC50) 投与により生じるモルモット気管平滑筋収縮作用は、比較的高濃度の硫化水素ナトリウム (NaSH; 0.5 mM- 5 mM) の投与により有意に抑制された。
- ② 硫化水素による細胞内Ca²⁺濃度上昇抑制機構の検討 (*in vitro*)

その結果、アセチルコリンにより生じる細胞内Ca²⁺濃度上昇反応は、硫化水素ナトリウムの前投与により抑制された。

- (2) 硫化水素による気道リモデリング作用の解明

気道リモデリングは、気管平滑筋や気管上皮細胞内でのMAP kinaseの活性化により生じる。そこで、ヒト気管平滑筋細胞や気管上皮細胞への硫化水素ナトリウム投与が、FBS投与で生じるMAP kinase刺激作用を抑制させるかを、Western blot法で測定した。その結果、アセチルコリン投与により生じるERKリン酸化反応は、硫化水素ナトリウムの前投与により抑制された。

以上より、硫化水素が気管平滑筋弛緩作用を有すること、またMAP kinase抑制作用を有することが明らかになった。これらの結果は、

硫化水素が、気管支喘息治療における全く新たな治療手段となりうることを示唆するものである。

現在、1. 硫化水素が、気管平滑筋を弛緩させる細胞内機序の解明、2. whole animalでの硫化水素吸入実験、3. 硫化水素が気道リモデリングを促進するメカニズムについて、さらに詳細にわたり検索することで、将来の臨床応用への可能性を探求している。これらの研究は、引き続きコロンビア大学医学部麻酔科学講座と共同で研究を継続している。

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5件)

- ① Mizuta K, Zhang Y, Xu D, Masaki E, Panettieri RA, Emala CW. Dopamine D₂ receptor is expressed and sensitizes adenylyl cyclase activity in airway smooth muscle. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 302, L316-324, 2012. (査読有)
DOI: 10.1152/ajplung.00130.2011
- ② Kawakami S, Izumi H, Masaki E, Kuchiiwa S, Mizuta K. Role of medullary GABA signal transduction on parasympathetic reflex vasodilatation in the lower lip. *Brain Res.*, 1437, 26-37, 2012. (査読有)
DOI:10.1016/j.brainres.2011.12.023
- ③ Izumi H, Ishii H, Mizuta K. Anterior hypothalamic inhibition of reflex parasympathetic vasodilatation in the lower lip and palate of anaesthetized cats. *Dent. J. Health*, 30, 43-52, 2011. (査読有)
- ④ Mizuta K, Mizuta F, Xu D, Masaki E, Panettieri RA Jr, Emala CW. Gi-coupled γ -aminobutyric acid-B receptors cross-regulate phospholipase C and calcium in airway smooth muscle *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 45, 1232-1238, 2011. (査読有)
DOI: 10.1165/rcmb.2011-00880C

- ⑤ 栗原 淳、水田 健太郎、宮下 仁、正木 英二. 重度肝硬変・慢性腎不全合併患者の舌部分切除術に対しレミフェンタニル、ミダゾラム併用静脈内鎮静法を用いた麻酔管理の一例. 日本歯科麻酔学会雑誌. 39, 194-195, 2011. (査読有)

[学会発表] (計8件)

- ① 水田 健太郎、水田 文子、堀之内 節、佐藤 港、正木 英二、Charles W. Emala
気管平滑筋における遊離脂肪酸受容体 FFAR1の発現とその役割 (発表確定)
第60回日本麻酔科学会学術集会
2013年5月23日 札幌市
- ② Goto A, Mizuta K, Danielsson J, Mizuta F, Masaki E, Emala CW.
The dopamine D₁ receptor is expressed and stimulates cyclic AMP production in airway epithelium
American Society of Anesthesiologists annual meeting 2012
2012年10月14日 ワシントンDC (アメリカ)
- ③ 水田 健太郎、後藤 阿裕美、正木 英二
気管平滑筋における遊離脂肪酸受容体 FFAR1の発現と気道リモデリング促進作用
第40回日本歯科麻酔学会学術集会
2012年10月6日 福岡市
- ④ 後藤 阿裕美、正木 英二、水田 健太郎
気管上皮におけるドーパミンD₁受容体の発現とMUC5AC遺伝子発現促進作用
第40回日本歯科麻酔学会学術集会
2012年10月6日 福岡市
- ⑤ Mizuta K, Zhang Y, Xu D, Mizuta F, Masaki E, Emala CW.
Dopamine D₁ receptor-mediated airway smoothmuscle relaxation is mediated via a cyclic AMP pathway. Euroanaesthesia 2012
2012年6月10日 パリ市 (フランス)
- ⑥ 後藤 阿裕美、Charles W. Emala, 正木 英二、水田 健太郎
気管上皮におけるドーパミンD₁受容体の発現とCFTR活性化作用
第59回日本麻酔科学会学術集会
2012年6月7日 神戸市

- ⑦水田 健太郎、水田 文子、正木 英二
気管平滑筋におけるドーパミンD₁受容
体の発現と気管平滑筋弛緩作用
第39回 日本歯科麻酔学会学術集会
2011年10月8日 神戸市
- ⑧水田 健太郎、後藤 阿裕美、正木 英二
GABA_B受容体を介した気管平滑筋収縮作用
の細胞内シグナリング機構
第53回 歯科基礎医学会
2011年10月2日 岐阜市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

水田 健太郎 (MIZUTA KENTARO)
東北大学・大学院歯学研究科・講師
研究者番号：40455796

(2)研究分担者

正木 英二 (MASAKI EIJI)
東北大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：40221577