

ホ．薬理作用

	頁
総 括	153
1．効力を裏付ける薬理試験	162
1) 気道上皮杯細胞の過形成に対する作用（予防効果）	162
(1) イソプロテレノール誘発モデル	162
(2) リポポリサッカライド誘発モデル	168
2) 気道上皮杯細胞の過形成に対する作用（治療効果）	171
(1) イソプロテレノール誘発モデル	171
(2) リポポリサッカライド誘発モデル	173
3) 粘液修復作用	175
4) 漿液性気道分泌に対する作用	177
5) 気道炎症に対する作用	181
6) フドステインの主薬理作用	185
2．その他の薬理作用	187
1) 粘膜潤滑作用	187
2) 粘液溶解作用	189
3) 気道上皮細胞の粘液分泌能に対する作用	190
4) 粘液性気道分泌に対する作用	191
(1) 気道上皮細胞での作用	191
(2) 粘膜下腺での作用	195
3．臨床痰に対する作用	197
4．代謝物の薬理作用	199
1) 気道上皮杯細胞の過形成に対する作用	199
2) 粘液修復作用	200
3) 粘液溶解作用	201
5．ムスカリン受容体，アドレナリン α 及び β 受容体への影響	202
6．一般薬理作用	203

ホ．薬理作用の項の略号一覧表

略 号 (一般名)	化 学 名	構 造 式	由 来
フドステイン	(-)-(R)-2-アミノ-3-(3-ヒドロキシプロピルチオ)プロピオン酸	$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}}-\text{CO}_2\text{H}$	原 薬 (SS320A)
M 1	(R)-2-アセチルアミノ-3-(3-ヒドロキシプロピルチオ)プロピオン酸	$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NHCOCH}_3}{\text{C}}}-\text{CO}_2\text{H}$	代謝物
M 2	(R)-2-アセチルアミノ-3-(2-カルボキシエチルチオ)プロピオン酸	$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NHCOCH}_3}{\text{C}}}-\text{CO}_2\text{H}$	代謝物
M 3	(2R)-2-アセチルアミノ-3-(3-ヒドロキシプロピルチオ)スルフィニルプロピオン酸	$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\overset{\text{O}}{\underset{\uparrow}{\text{S}}}\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NHCOCH}_3}{\text{C}}}-\text{CO}_2\text{H}$	代謝物
M 4	(2R)-2-アミノ-3-(3-ヒドロキシプロピルチオ)スルフィニルプロピオン酸	$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\overset{\text{O}}{\underset{\uparrow}{\text{S}}}\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}}-\text{CO}_2\text{H}$	代謝物
カルボン酸体	(R)-2-アミノ-3-(2-カルボキシエチルチオ)プロピオン酸	$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}}-\text{CO}_2\text{H}$	仮想代謝物

ホ. 薬理作用

総 括

気道における気道分泌液（粘性を示すことより習慣的には気道粘液が用いられる）の生産量は1日約10～100mLであり、気道上皮の杯細胞及び粘膜下腺の粘液細胞から分泌される粘液（ムチン）と粘膜下腺の漿液細胞から分泌される漿液より構成される¹⁾。気道分泌液は生体の防御機構として細菌や有害物質の排除に関わっているが、正常な状態では漿液が優位を占め、線毛運動により末梢気道から気管まで輸送され反射的に食道に嚥下され、痰として喀出されることはない。しかしながら、気道が病的状態に陥り気道分泌液の量の増加や組成の変化が起こると、喀痰として排出されるだけでなく、線毛輸送や咳による喀痰が障害され胸部不快感（痰が胸につかえている感じ）や喀出困難（痰の出しにくさ）等の自覚症状が発現し、窒息等の重篤な病態を招く恐れもある（模式図1）。

去痰薬は、この胸部不快感（気道閉塞感）や喀出困難の改善を目的として用いられ、本邦ではその薬理作用により①粘液修復薬、②粘膜潤滑薬、③粘液溶解薬に分類されている（模式図2）が、各薬剤のすべての薬理作用に基づく分類ではなく確立されたものではないと考えられる。

そこで、各種の動物モデルを用いて、粘液を分泌する気道上皮杯細胞数の増加（過形成）、痰の粘弾性に関与する痰中成分（フコース／シアル酸比）への影響、漿液性分泌等に対するフドステインの作用を検討した。

その結果、フドステインは、杯細胞過形成抑制作用、痰組成の改善（粘液修復作用）、漿液性気道分泌亢進作用、抗炎症作用を示す一方で、粘液溶解作用や粘膜潤滑作用はみられず（模式図2）、前述の4つの作用により総合的に効果を示し、その主薬理作用は杯細胞過形成抑制作用と粘液修復作用であると考えられた。

一方、生理的にどの過程に影響を及ぼすことが、去痰薬としての効能・効果を謳ううえで一番有用であるかを考慮することは、痰の性質・状態、気道の状態等によって異なってくる。

曳糸性の高い粘性痰には粘液溶解作用及び粘液修復作用（あるいは粘膜潤滑作用）を有する薬剤の適用が考えられ、曳糸性が低く粘弾性も低いことが多い膿性痰は粘膜潤滑作用を有する薬剤の適用（あるいは粘液修復作用を有する薬剤との併用）が考えられる²⁾。しかしながら、bronchorrhea（気管支喘息で、喘鳴に加えて100mL/日以上卵白様喀痰を有する病態）でみられる痰は粘稠度が極めて低いため、粘液溶解作用を有する薬剤を投与すると更に線毛による輸送性が低下する可能性があるため避けなければならない²⁾。これに対し、痰の性状を生理的な気道分泌液の状態に近づける粘液修復作用を有する薬剤は痰の性状に関係なく使用できるといわれている³⁾。

以上より、痰のレオロジーを考慮しなければならない粘液溶解作用、患者の病態を考慮しなければならない粘膜潤滑作用に対し、粘液過分泌の原因となる杯細胞過形成抑制作用、並びに粘液の組成を正常な気道液に近づける粘液修復作用は、適応の幅が広く、これらの作用に加え漿液性気道分泌亢進作用及び抗炎症作用を併せ持つフドステインは去痰薬として有用であると考えられる。しか

1) Lundgren, J.D. and Baraniuk, J.N. : Pulmonary Pharmacology, 5, 81 (1992)

2) 川上雅彦 他：呼吸, 16, 1439 (1997)

3) 大串文隆：分子呼吸器病, 2, 116 (1997)

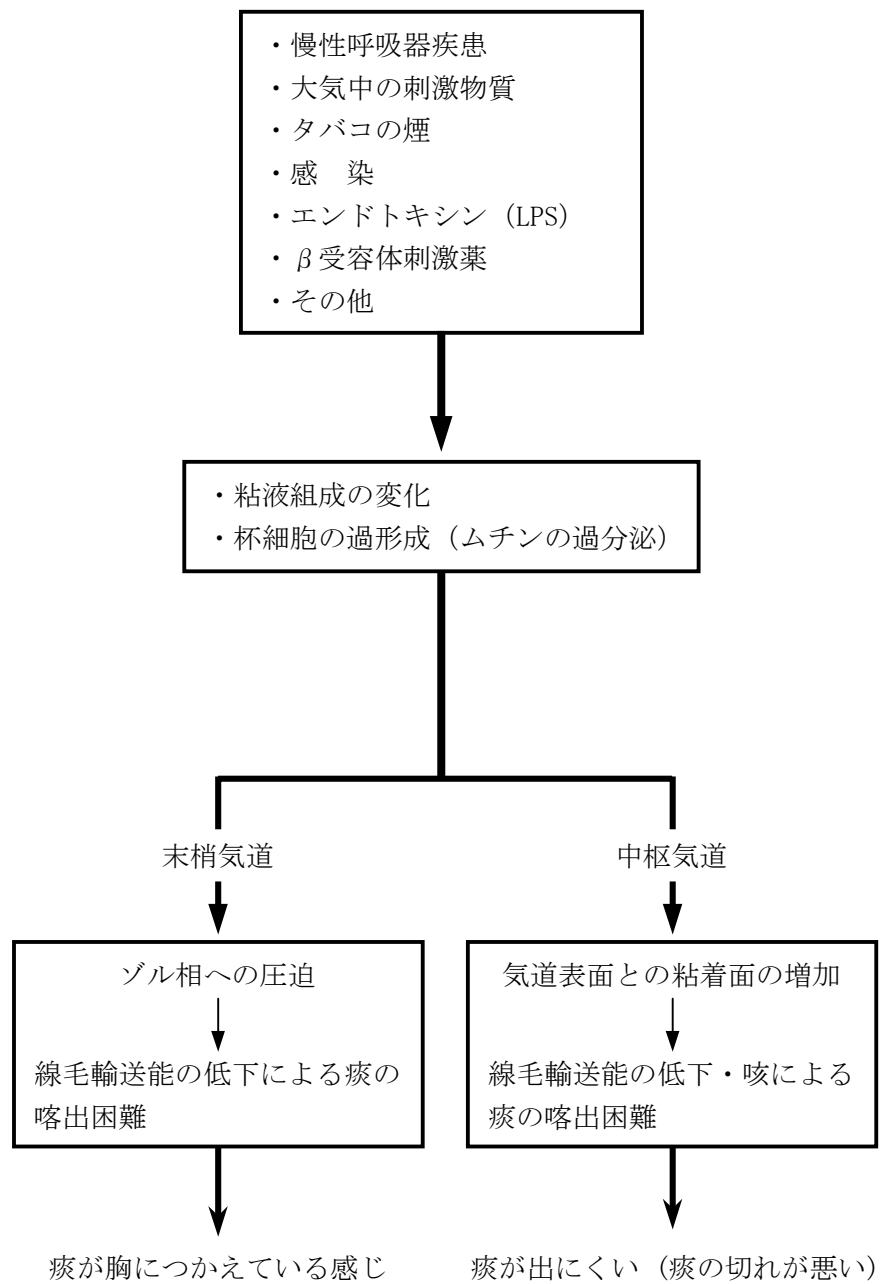
しながら，これらの作用の臨床効果への寄与の程度については明らかになっていない。特に，杯細胞過形成抑制作用については，杯細胞数の測定が必要であり，気道上皮からの検体採取を行わなければならないが，倫理的に実施不可能で臨床試験での検証ができなかった。この点については，今後，生検技術の向上，あるいは生検によらない杯細胞評価法が報告された時点での検討課題として残されている。

去痰薬の分類と薬理作用の比較

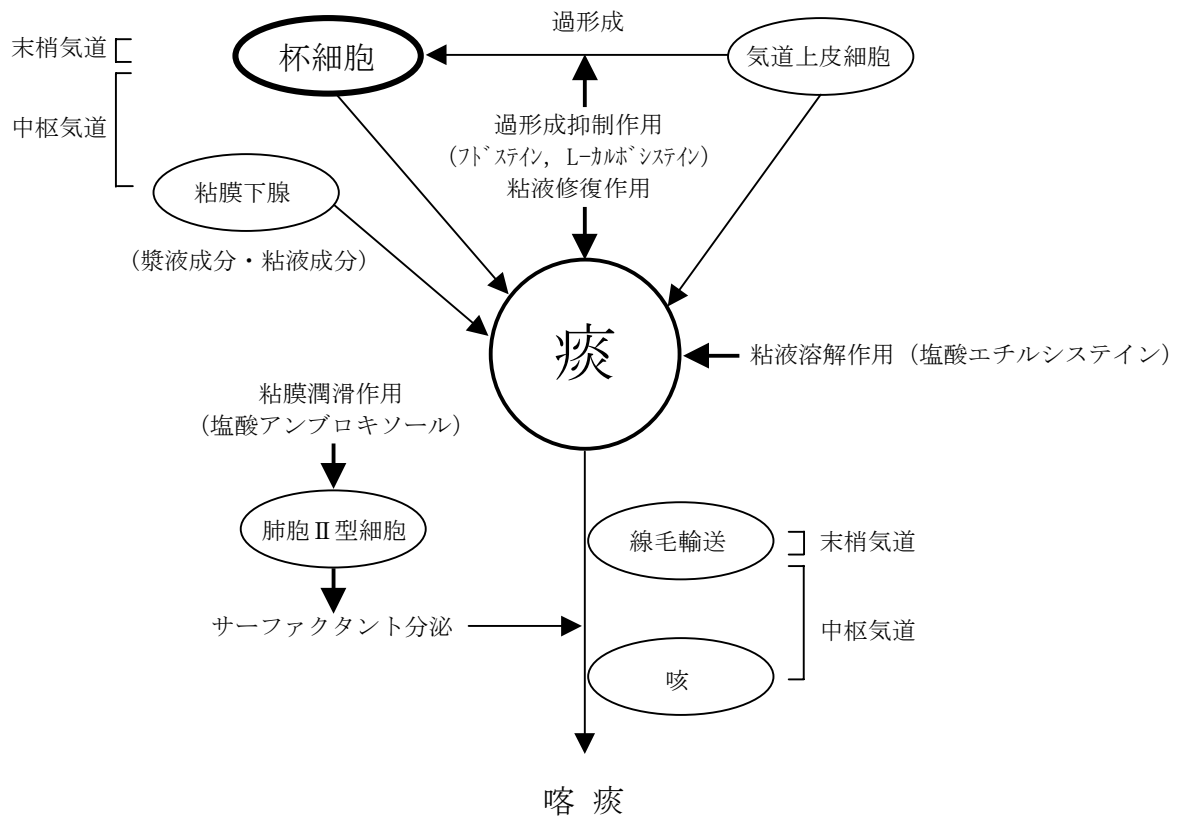
分 類	薬 剤 名	メカニズムと薬理作用 ^{4~7)}
	フドステイン	1) 気道上皮細胞から杯細胞の過形成を抑制する。 2) 痰のフコース／シアル酸比を正常化することにより痰の粘性や弾性を改善し，線毛により輸送されやすい気道分泌液の状態に再構成する。 3) 漿液性分泌を亢進させる。 4) 抗炎症作用
①粘液修復薬	L-カルボシステイン	1) 痰のフコース／シアル酸比を正常化することにより痰の粘性や弾性を改善し，線毛により輸送されやすい気道分泌液の状態に再構成する。 2) 高用量で杯細胞過形成抑制作用を示す。 3) 抗炎症作用
②粘膜潤滑薬	塩酸アンブロキシール	1) 肺サーファクタント産性・分泌を増加し，痰の気道上皮への粘着を低下させる。 2) 気道分泌液の分泌促進作用を示す。 3) 抗炎症作用
③粘液溶解薬	メシステイン塩酸塩 塩酸エチルシステイン アセチルシステイン	1) 気道粘液中の糖蛋白のジスルフィド結合を開裂させることにより粘液を溶解し，痰の粘稠度を低下させる。
	塩酸プロムヘキシン	1) 粘液溶解作用（酸性糖蛋白の繊維網の溶解低分子化）。 2) 漿液性分泌を亢進させる。

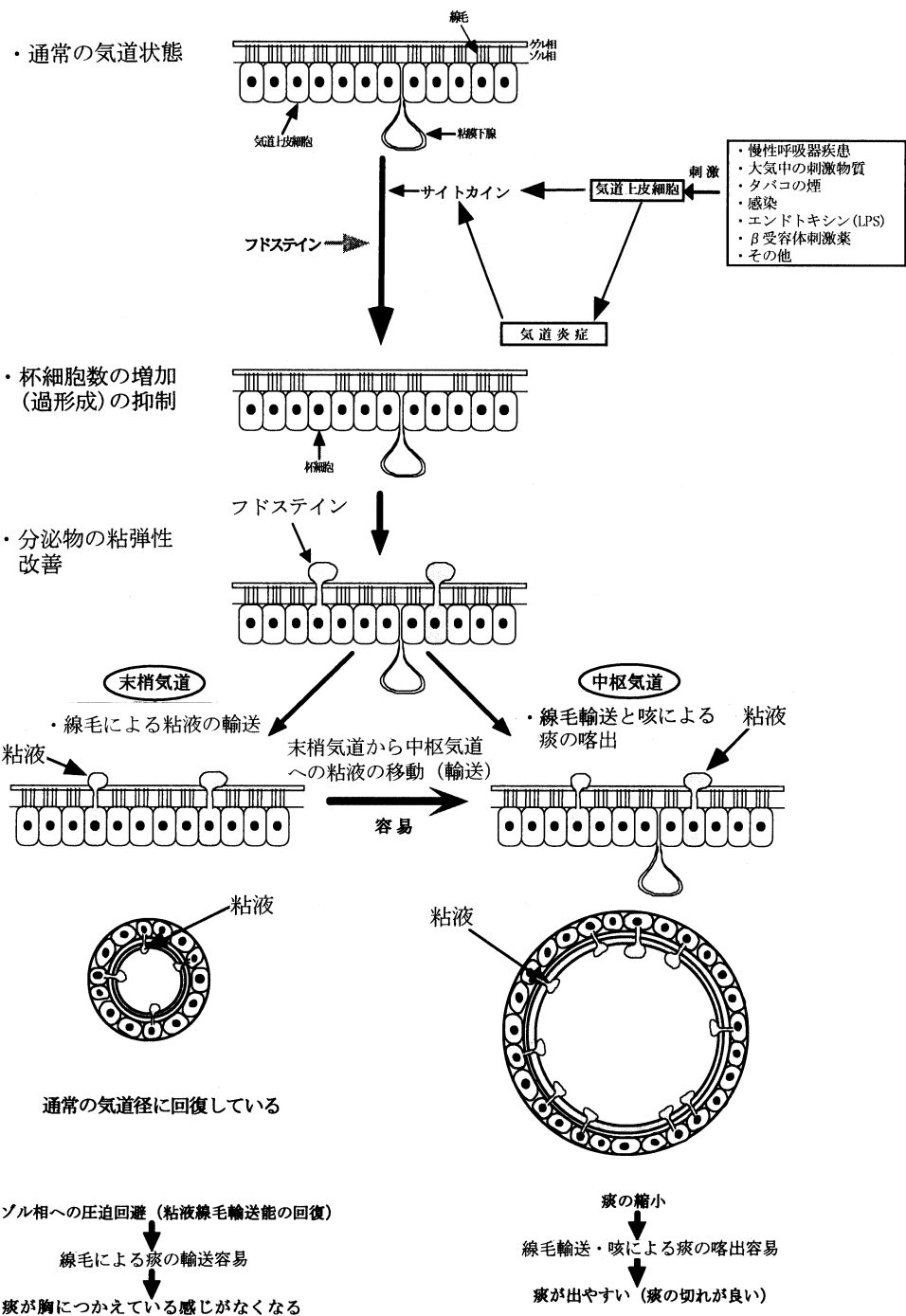
4) 志村早苗：呼吸と循環，**46**，359（1998）
5) 安岡 勲 他：気管支学，**8**，312（1986）
6) 北村 諭 他：総合臨牀，**47**，3150（1998）
7) 三澤美和 他：日薬理誌，**92**，263（1988）

痰の生成と自覚症状発現（模式図 1）



痰の生成・喀出機構と去痰薬の作用点（模式図2）





フドステインを処置した場合の杯細胞の増加（過形成）抑制，粘液組成の修復（粘弾性の改善）と末梢気道及び中枢気道での粘液の生成及び気道内での粘液の状態の模式図。

痰（粘液）の生成・咯出機構とフドステインの作用点

1. 効力を裏付ける薬理試験

1) 気道上皮杯細胞の過形成に対する作用（予防効果）

(1) イソプロテレノール（Iso）誘発モデル

フドステインは10, 30及び100mg/kg反復経口投与で、雌雄ラットでのIso誘発による杯細胞数の増加（過形成）を有意に抑制した。L-カルボシステインの100mg/kg経口投与は抑制作用を示さなかったが、500mg/kg経口投与は有意な抑制作用を示した。その他の市販去痰薬3種（塩酸アンブロキシソール、塩酸ブロムヘキシン、塩酸エチルシステイン）の抑制作用は発現しても臨床用量と比較すると弱いものであった。

(2) リポポリサッカライド（LPS）誘発モデル

フドステインは10, 30及び100mg/kg反復経口投与で、雄ラットでのLPS誘発による杯細胞数の増加（過形成）を有意に抑制した。L-カルボシステインの100mg/kg経口投与は抑制作用を示さなかったが、500mg/kg経口投与は有意な抑制作用を示した。その他の市販去痰薬2種（塩酸アンブロキシソール、塩酸ブロムヘキシン）の抑制作用は発現しても臨床用量と比較すると弱いものであった。

2) 気道上皮杯細胞の過形成に対する作用（治療効果）

(1) イソプロテレノール（Iso）誘発モデル

雄ラットでのIso誘発による杯細胞数の増加（過形成）後においても、フドステインの10, 30及び100mg/kg反復経口投与は杯細胞数の増加（過形成）を有意に抑制した。L-カルボシステインの100及び500mg/kg経口投与は抑制作用を示したが有意ではなかった。

(2) リポポリサッカライド（LPS）誘発モデル

雄ラットでのLPS誘発による杯細胞数の増加（過形成）後においても、フドステインの10, 30及び100mg/kg反復経口投与は杯細胞数の増加（過形成）を有意に抑制した。L-カルボシステインの100mg/kg経口投与は有意な抑制作用を示した。塩酸アンブロキシソールの100mg/kg経口投与も抑制作用を示したが、臨床用量と比較すると弱いものであった。

3) 粘液修復作用

ウサギ亜硫酸ガス曝露誘発気管支炎モデルにおいて、フドステインは20, 100, 500mg/kg反復経口投与で、痰中のフコース／シアル酸比を用量反応的に抑制し、500mg/kg経口投与で有意な抑制作用がみられた。L-カルボシステインは500mg/kg経口投与で抑制傾向を示した。

4) 漿液性気道分泌に対する作用

フドステインは500mg/kg経口投与で、ウサギ漿液性気道分泌を有意に増大したが、100mg/kg並びにL-カルボシステイン500, 1000及び1500mg/kg経口投与では影響を与えなかった。更に、フドステインは500mg/kg経口投与で、気管支肺胞洗浄液（BALF）中のCl⁻濃度を有意に増大したが、100mg/kg並びにL-カルボシステイン500mg/kg経口投与では影響を与えなかった。

5) 気道炎症に対する作用

(1) リポポリサッカライド (LPS) 誘発モデル

フドステインは10～100mg/kg反復経口投与で、LPS誘発によるラットBALF中のcytokine-induced neutrophil chemo-attractant-1 (CINC-1) 量の増加を有意に抑制し、30及び100mg/kg反復経口投与では好中球数の増加を有意に抑制した。L-カルボシステインはCINC-1量の増加に対しては、フドステインより軽度の抑制作用を示したが、他には影響がみられなかった。

(2) 抗原誘発モデル

フドステインは100mg/kg反復経口投与で、対照群に比較してマウスBALF中の全白血球数及び好酸球数を有意に抑制したが、L-カルボシステインは100mg/kgを同様に投与しても、炎症細胞浸潤を抑制しなかった。

2. その他の薬理作用

1) 粘膜潤滑作用

フドステインの 10^{-6} ～ 10^{-4} M及びL-カルボシステインの 10^{-4} Mは、粘膜潤滑作用を示さなかった。

2) 粘液溶解作用

フドステインは 10^{-2} Mで、粘液溶解作用を示さなかった。

3) 気道上皮細胞の粘液分泌能に対する作用

フドステインは 10^{-5} ～ 10^{-3} Mで、air interface法で培養した気道上皮細胞のムチン基礎分泌能を有意に抑制した。

4) 粘液性気道分泌に対する作用

(1) 気道上皮細胞での作用

フドステインは 10^{-5} ～ 10^{-4} Mで、ATP及びブラジキニン誘発によるヒト気道上皮細胞株NCI-H292のムチン分泌亢進を有意に抑制したが弱いものであった。しかし、市販去痰薬3種（塩酸アンブロキシール、塩酸エチルシステイン、L-カルボシステイン）は影響しなかった。

(2) 粘膜下腺での作用

フドステインは 10^{-3} Mで、ネコの粘膜下腺からのムチン基礎分泌及びメタコリン誘発ムチン分泌に対して何ら影響を与えなかった。

3. 臨床痰に対する作用

フドステイン1.2 g/日（分3）を2週間投与した慢性気管支炎及び気管支拡張症患者から採取した痰は、投与前の痰に比較してカエルの口蓋粘膜の線毛による粘液輸送速度が有意に増加した。

4. 代謝物の薬理作用

1) 気道上皮杯細胞の過形成に対する作用

Iso誘発気道上皮杯細胞過形成に対して、フドステインの代謝物M1, M2, M3及びM4は100mg/kg反復静脈内投与によっても何ら影響を与えなかった。

2) 粘液修復作用

ウサギ亜硫酸ガス曝露誘発気管支炎モデルにおいて、代謝物M1, M2, M3及びM4の300mg/kg反復静脈内投与並びにフドステインの仮想代謝物カルボン酸体の500mg/kg反復経口投与は痰中のフコース／シアル酸比に影響を与えなかった。

3) 粘液溶解作用

代謝物M1, M2, M3, M4及び仮想代謝物カルボン酸体の 10^{-2} Mは、粘液溶解作用を示さなかった。

5. ムスカリン受容体, アドレナリン α 及び β 受容体への影響

フドステイン (1.67×10^{-3} M) は、ムスカリン受容体のサブタイプ (M1, M2, M3), α 受容体のサブタイプ (α_1 , α_2) 及び β 受容体のサブタイプ (β_1 , β_2 , β_3) のいずれの受容体に対しても影響を与えなかった。

6. 一般薬理作用

フドステインは臨床用量に比べ大量投与しても、一般症状及び行動, 中枢神経系, 自律神経系及び平滑筋, 呼吸・循環器系, 消化器系及び泌尿器系並びに血液系に特記すべき作用を示さなかった。

1. 効力を裏付ける薬理試験

1) 気道上皮杯細胞の過形成に対する作用（予防効果）

(1) イソプロテレノール（Iso）誘発モデル

i. 目 的

フドステインのIso誘発気道上皮杯細胞の過形成に対する作用を市販の去痰薬（類薬）と比較検討する。

ii. 方 法

ウイスター系雌雄ラットを使用した。Iso 0.05mg/kgを1日1回14日間^{注1)}反復腹腔内投与した。各被験薬物は、Iso投与30分前に1日1回14日間反復経口投与した。陽性対照薬のプロプラノロール（1mg/kg）も同様に皮下投与した。気管はIso最終投与24時間後に摘出し、ホルマリン液で固定した後、気管分岐部より上部1cmの箇所を横断面に切り、アルシアンブルー/パス（AB/PAS）染色を行い、既報¹¹⁾に準じて杯細胞数を測定した^{注2)}。

注1) 投与期間について

江田ら¹²⁾はラットにIso（0.05mg/kg, i.p.）を2, 3及び4週間連続投与してもBALF中の分泌物の粘度と蛋白質量の増加は同程度であり、この分泌物は杯細胞の増加によるものと考察している。このことより、Isoを14日間以上投与しても、杯細胞の過形成が更に増加することはないものと推察され、Isoの投与期間は14日間とした。

注2) 杯細胞の計測方法について

杯細胞の評価・検討方法は各種の報告がなされ、各論文^{4, 13~19)}の評価方法は異なっているもののいずれも病理組織学的評価で行っている点は共通している。今回、フドステインが用いた評価方法はラットの摘出気管及び気管支を、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、AB/PASの二重染色を施し、気管支分岐部より中枢側にかけて6mm中の気道上皮細胞のAB染色（酸性糖蛋白）とPAS染色（中性糖蛋白）が先端部あるいは全体にみられるものをカウントする方法である。これはSturgess and Reid¹¹⁾の方法によるものであり、古くから知られている杯細胞評価法である。フドステインでは、先端部あるいは全体にみられる気道上皮細胞を4種類（s-AB, s-PAS, f-AB及びf-PAS）に分類し^{注3)}、そのカウント合計を1標本の杯細胞数として評価した。

注3) 染色陽性細胞（杯細胞）の分類

分 類	所 見
s-AB	気道上皮細胞の先端部のみにAB陽性顆粒及びPAS陽性顆粒がみられるもの
s-PAS	気道上皮細胞の先端部のみにPAS陽性顆粒がみられるもの
f-AB	気道上皮細胞の全体にAB陽性顆粒及びPAS陽性顆粒がみられるもの
f-PAS	気道上皮細胞の全体にPAS陽性顆粒がみられるもの

11) Sturgess, J. and Reid, L. : Br. J. Exp. Path., **54**, 388 (1973)

12) 江田昭栄 他 : 日薬理誌, **74**, 317 (1978)

13) 滝島 任 : 日内会誌, **77**, 22 (1988)

14) 川田 博 他 : 日胸疾会誌, **19**, 873 (1981)

15) Thurlbeck, W.M. et al : Am. Rev. Respir. Dis., **112**, 65 (1975)

16) 永井厚志 他 : 日胸疾会誌, **31**, 971 (1993)

17) 鴨志田敏郎 : 日胸疾会誌, **31**, 169 (1993)

18) 志村早苗 : 医学のあゆみ, **179**, 177 (1996)

19) Boat, T.F. and Boucher, R.C. : In Textbook of Respiratory Medicine, eds. Murray, J.F. and Nadel, J.A. (Saunders, New York), Chapter 43

iii. 用量の根拠と妥当性

フドステインはIso誘発杯細胞過形成に対する予備検討で、100及び500mg/kgで過形成を抑制した成績を得ていることから、更に低用量の10、30mg/kgの用量と予備検討で効果のみられている100mg/kgを用いた。

一方、L-カルボシステインは予備試験において、500mg/kg経口投与で抑制作用がみられていることから、100mg/kgを選択した。また、追加試験では作用確認のため、500mg/kgの投与も行った。

本試験は最大で14日間の反復投与を行うことから、市販去痰薬（塩酸アンブロキシソール、塩酸ブロムヘキシシン及び塩酸エチルシステイン）の投与量は、反復毒性試験で影響のみられない用量を上限とすることとした。各薬物の反復投与毒性試験の文献^{20~22)}を調査した結果、いずれも影響のみられない用量は200mg/kg以下であった。また、今回用いた評価系での類薬の検討は初めてであることから、臨床用量より高用量で比較することとした。フドステイン及びL-カルボシステインは100mg/kgを選択していること、類薬の100mg/kgは反復投与しても毒性は現れないものと予想されることから、一律100mg/kgを設定した。その結果、L-カルボシステイン、塩酸アンブロキシソール、塩酸ブロムヘキシシン及び塩酸エチルシステインは、それぞれの臨床用量の3.33倍、111倍、417倍及び16.7倍となった。

なお、フドステインの投与量の臨床への外挿については、ヒトへ400mg食後投与（ヒトの体重を50kgとした場合8mg/kgに相当）したとき、非絶食時のラットに12.5mg/kg経口投与したときに比べ、未変化体のAUCは高値、 C_{max} は同程度の値であったことから、ヒトの方がラットより同程度あるいはそれ以上の曝露を示すものと考えられた。

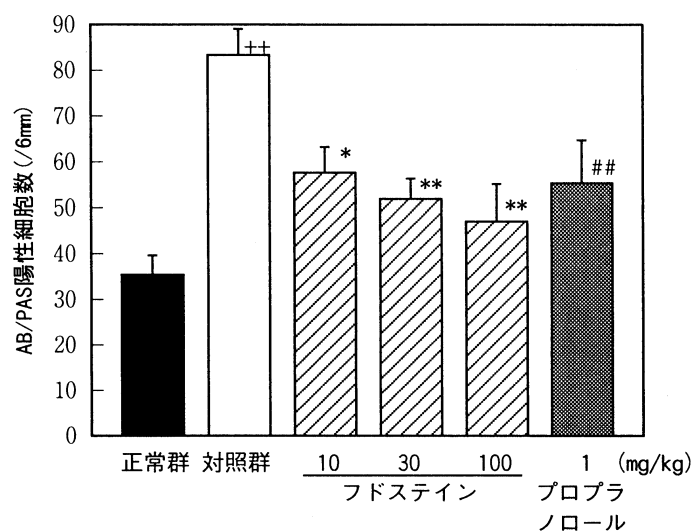
iv. 成績

フドステインの10、30及び100mg/kg経口投与は、Isoによる杯細胞の増加（過形成）を有意に抑制した。雄の場合はそれぞれ53.7、65.6、75.8%の抑制率を、雌の場合はそれぞれ55.9、60.4、69.6%の抑制率を示した（図ホー1、2）。陽性対照薬に用いたプロプラノロールの1mg/kg皮下投与は、雌雄それぞれ67.2及び58.5%の有意な抑制を示した。

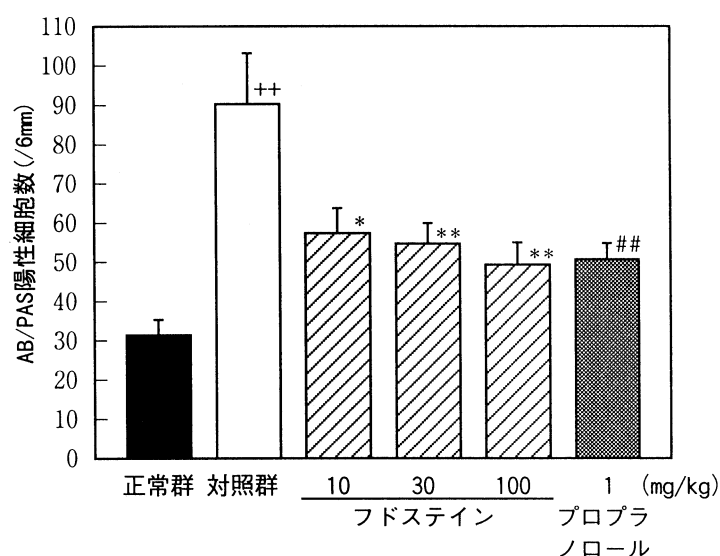
20) 和田 博 他：医薬品研究，12，273（1981）

21) Engelhorn, R. et al : Arzneimittel.-Forsch./Drug Res., 13, 474（1963）

22) チスタニン糖衣錠添付文書

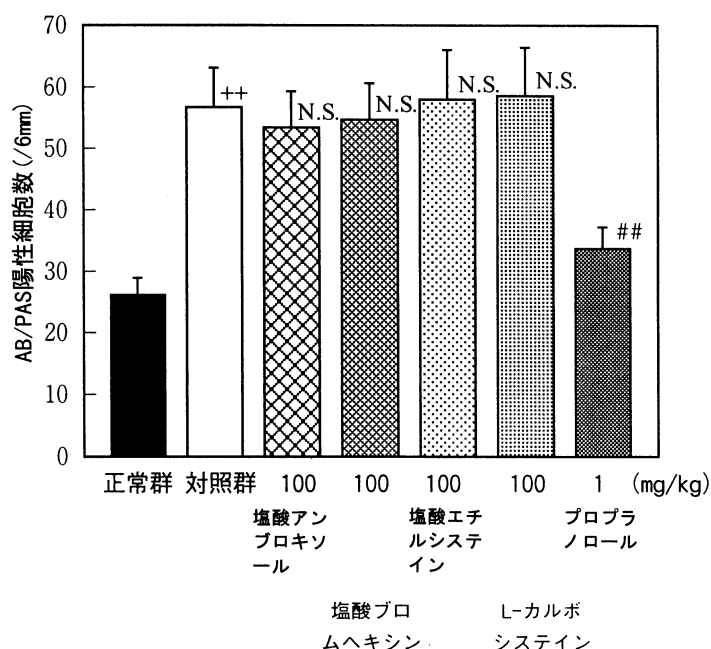


図ホー 1 イソプロテレノール誘発気道上皮杯細胞数の増加（過形成）に対するフドステインの作用（雄ラット）
 ++ : $p < 0.01$ vs 正常群 (Student's t 検定)
 *, **: $p < 0.05$ and $p < 0.01$ vs 対照群 (Dunnettの多重比較)
 ## : $p < 0.01$ vs 対照群 (Student's t 検定)
 n=7 (平均値±標準誤差)



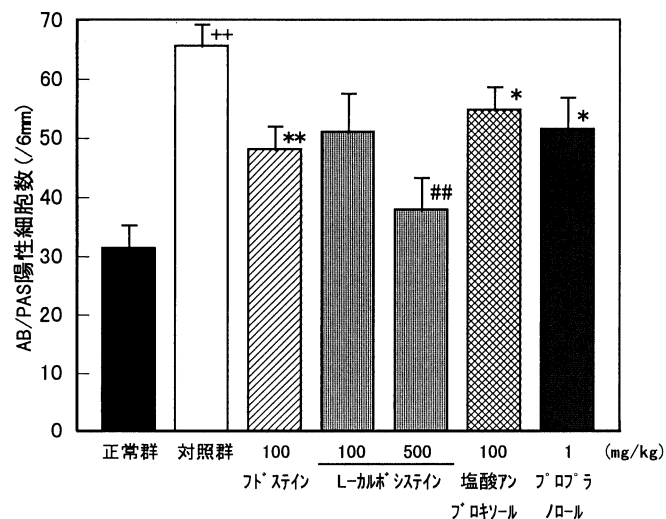
図ホー 2 イソプロテレノール誘発気道上皮杯細胞数の増加（過形成）に対するフドステインの作用（雌ラット）
 ++ : $p < 0.01$ vs 正常群 (Student's t 検定)
 *, **: $p < 0.05$ and $p < 0.01$ vs 対照群 (Dunnettの多重比較)
 ## : $p < 0.01$ vs 対照群 (Aspin-Welch t 検定)
 n=7 (平均値±標準誤差)

一方、塩酸アンブロキシール、塩酸ブロムヘキシシ、塩酸エチルシステイン及びL-カルボシステインは、100mg/kg経口投与では、いずれも杯細胞数の増加（過形成）を抑制しなかった。それぞれの抑制率は10.8, 6.5, -4.2, -6.2%であった（図ホー3）。陽性対照薬に用いたプロプラノロールは、75.2%の有意な抑制を示した。



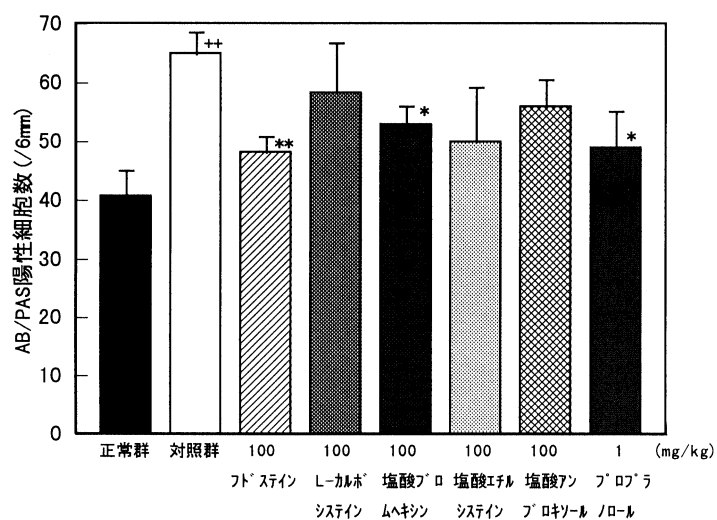
図ホー3 イソプロテレノール誘発気道上皮杯細胞数の増加（過形成）に対する市販去痰薬の作用（雄ラット）
 + : $p < 0.01$ vs 正常群 (Student's t 検定)
 ## : $p < 0.01$ vs 対照群 (Aspin-Welch t 検定)
 N.S. : 対照群とのDunnettの多重比較で有意差なし
 n=7 (平均値±標準誤差)

しかしながら、上記の成績はフドステインと類薬を同時に比較していないこと、類薬の成績は雄ラットのみであったことより、追加試験として雌雄のラットを用いてフドステインと類薬を同時に比較検討した。その結果、雄ラットでは、フドステイン100mg/kgは有意な抑制作用を示した。一方、L-カルボシステインの100mg/kg経口投与は有意な抑制作用を示さなかったが、500mg/kg経口投与は有意な抑制作用を示した（図ホー4）。また、雌ラットでもフドステイン100mg/kgは有意な抑制作用を示したのに対し、L-カルボシステインの100mg/kg経口投与は抑制作用を示さなかった（図ホー5）。



図ホー 4 イソプロテレノール誘発気道上皮杯細胞数の増加（過形成）に対する
フドステイン及び市販去痰薬の予防効果（雄ラット）

++ : $p < 0.01$ vs 正常群 (Student's t 検定)
 *, **: $p < 0.05$ and $p < 0.01$ vs 対照群 (Student's t 検定)
 ## : $p < 0.01$ vs 対照群 (Dunnettの多重比較)
 n=7 (平均値±標準誤差)



図ホー 5 イソプロテレノール誘発気道上皮杯細胞数の増加（過形成）に対する
フドステイン及び市販去痰薬の予防効果（雌ラット）

++ : $p < 0.01$ vs 正常群 (Student's t 検定)
 *, **: $p < 0.05$ and $p < 0.01$ vs 対照群 (Student's t 検定)
 n=7 (平均値±標準誤差)

v. 考 察

Iso及び後述するリポポリサッカライド (LPS) 誘発による杯細胞過形成の抑制作用を検討した本評価系は、痰の粘液分泌に関わる杯細胞に目的を絞った薬理試験である。既存去痰薬のこの部位に関する検討は少なく、イヌの杯細胞の分泌機能に対してブロムヘキシンが影響を与えないとする報告²³⁾をみるにすぎない。フドステインの試験で用いた2種 (Iso及びLPS) の評価モデルは以前より報告されているもので、Isoの連続投与による粘度の高い分泌物は杯細胞の増加によるものである^{11, 12, 24, 25)} こと、またLPSの気管内投与は杯細胞数を増加する報告がみられる^{26, 27)} ことから、杯細胞の増加とこの細胞から分泌される粘液分泌の関係がいられている。

フドステインは、10～100mg/kgの投与で杯細胞の過形成を抑制することを示している。追加試験の成績よりL-カルボシステインは、100mg/kg経口投与では抑制作用を示さないが、500mg/kg経口投与では抑制作用を示すことから、力価はフドステインの方が強いものと考えられた。また、ムチンは炎症や感染時には生体防御機能としての役割も有するが、Isoによる杯細胞過形成に対して、フドステインの10～100mg/kgは正常群レベルまで抑制することはなかった。一方、フドステインの最大抑制作用を検討するために実施した試験成績はないが、Iso誘発モデルでの予備試験において、フドステインの100及び500mg/kg経口投与は正常群レベルまで抑制作用を示した。しかしながら、フドステインは10mg/kgでも抑制作用がみられていること、フドステインの臨床用量は8mg/kg (ヒトの体重を50kgとして1回用量を400mgとした場合) であること、フドステイン500mg/kgを投与しても正常群レベルまでの抑制作用であることを勘案すると、臨床用量においてフドステインを投与しても、炎症・感染時のムチンの合目的役割は維持されているものと考ええる。

今回、各試験において対照群の値が異なっているが、正常群に対する対照群の増加率は図ホー1では約2.4倍、図ホー3では約2.2倍と同程度である。よって、実験系としては評価できるものと考えられる。

また、AB/PAS染色陽性細胞数への影響として個体差、部位差及び季節変動が考えられるが、個体差については試験ごとの各群における標準誤差の変動幅、並びに試験間の標準誤差の変動幅は、大きく異なることから個体差は同程度と考えられ、個体差による試験結果への影響は少ないものと考ええる。部位差については、予備試験において気管の上部、中部、下部に分けて陽性細胞数の変動を検討した結果をもとに、下部では気管支分岐部という一定の評価開始場所を設定できること、陽性細胞数の多いことから安定した評価ができうと判断し、以降の試験は統一して下部で評価を行った。一方、動物実験において気道分泌量は環境条件 (季節、周囲の温湿度、大気圧、天候等) に左右されることが知られているが、季節変動の影響により杯細胞数が変動するか否かは不明である。

23) 柳浦才三 他：日薬理誌, 77, 559 (1981)

24) Baskerville, A. : J. Path., 119, 35 (1976)

25) Jones, R. and Reid, L. : Am. J. Pathol., 95, 407 (1975)

26) Steiger, D. et al : Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 12, 307 (1995)

27) Stolk, J. et al : J. Pathol., 167, 349 (1992)

(2) リポポリサッカライド (LPS) 誘発モデル

i. 目 的

フドステインのLPS誘発気道上皮杯細胞の過形成に対する作用を市販の去痰薬と比較検討する。

ii. 方 法

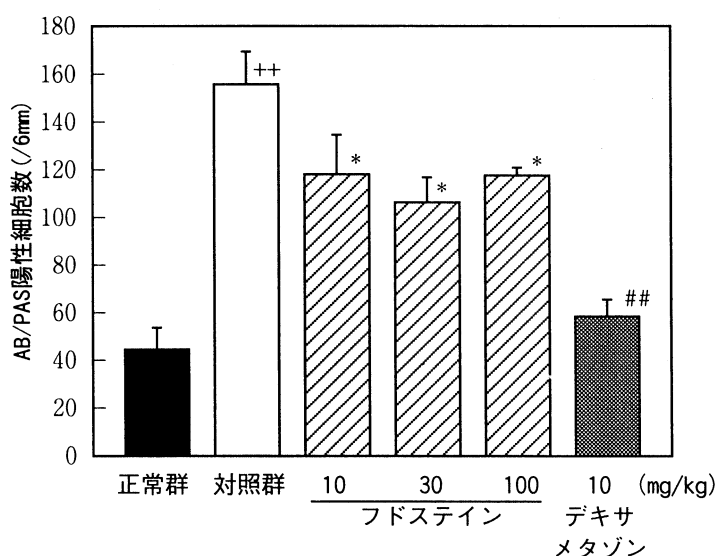
F344系雄性ラットを使用した。LPSの投与量並びに投与方法は、Steigerら²⁶⁾の方法に従った。ラットは、ペントバルビタール麻酔下にLPS 1 mg/500 μ L (追加試験では10 μ g/500 μ L) を気管内に投与した。各被験薬物は、LPS投与の30分前及び投与後2日間の計3回経口投与した。気管は、LPS投与3日後にペントバルビタール麻酔下に摘出した。以下は(1) (162頁)の方法と同様に行った。

iii. 用量の根拠と妥当性

フドステインはIso誘発杯細胞過形成に対する予備検討で、100及び500mg/kgで過形成を抑制した成績を得ていることから、LPS誘発モデルにおいても100mg/kgを用い、更に低用量の10、30mg/kgの用量も検討することとした。また、塩酸アンブロキシール、塩酸ブロムヘキシン、塩酸エチルシステイン及びL-カルボシステインの用量は、(1) (163頁)の試験と同量とした。

iv. 成 績

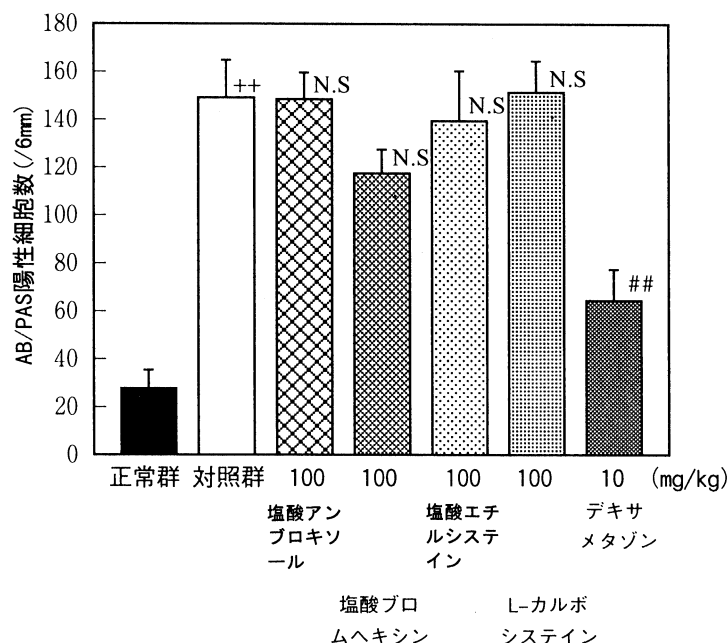
フドステインは10、30及び100mg/kg経口投与で、いずれもLPSによる杯細胞の増加 (過形成) をそれぞれ31.2、41.0、31.6%の有意な抑制を示した (図ホー6)。陽性対照薬に用いたデキサメタゾンの10mg/kg投与は、81.1%の有意な抑制を示した。



図ホー6 リポポリサッカライド誘発気道上皮杯細胞数の増加 (過形成) に対するフドステインの作用

++ : $p < 0.01$ vs 正常群 (Student's t 検定)
* : $p < 0.05$ vs 対照群 (Dunnettの多重比較)
: $p < 0.01$ vs 対照群 (Student's t 検定)
n=7 (平均値 $\pm$ 標準誤差)

一方、塩酸アンブロキシソール、塩酸ブロムヘキシシ、塩酸エチルシステイン及びL-カルボシステインは、100mg/kg経口投与では、いずれも杯細胞数の増加（過形成）を抑制しなかった。それぞれの抑制率は0.6、26.1、8.0、-1.9%であった（図ホー7）。陽性対照薬に用いたデキサメタゾンは、69.7%の有意な抑制を示した。



図ホー7 リポポリサッカライド誘発気道上皮杯細胞数の増加（過形成）に対する市販去痰薬の作用

++ : $p < 0.01$ vs 正常群 (Student's t 検定)

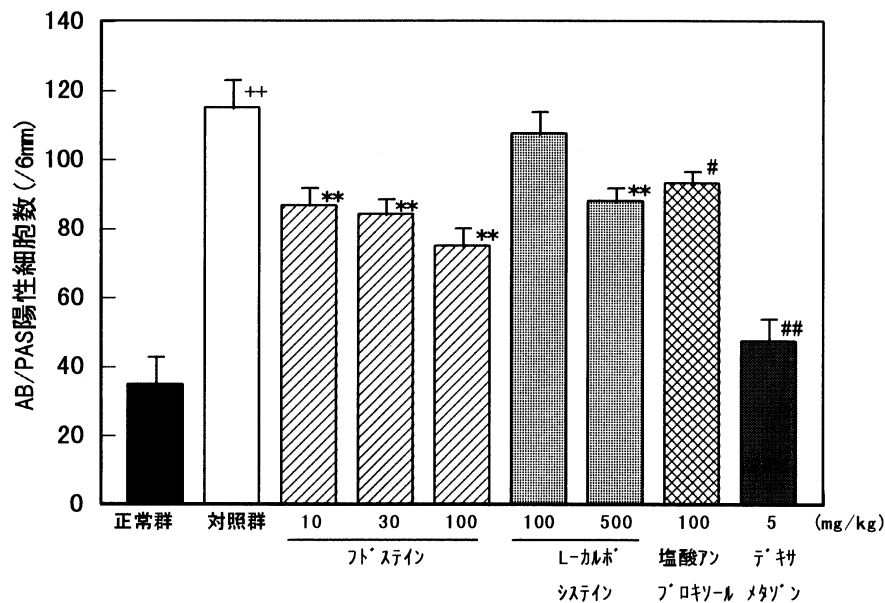
: $p < 0.01$ vs 対照群 (Student's t 検定)

N. S. : 対照群とのDunnettの多重比較で有意差なし

n=6 (平均値±標準誤差)

しかしながら、上記の成績において、フドステインの用量反応性がみられなかったこと、フドステインと類薬を同時に比較していなかったことより、予備試験においてLPSの濃度を再検討した。

図ホー6に示した試験を実施するにあたり、LPSの濃度は文献²⁶⁾に基づき1 mg/500 μ Lを用いた。この結果、上述のようにフドステインは10、30、100mg/kgで有意な抑制作用を示したが、用量反応性はみられなかった。これは、気道上皮細胞の杯細胞過形成への転化割合がIsoよりLPSの方が多きことから、後者の方が強い杯細胞過形成病態モデルであったため薬物効果を得にくかったものと考えられた。つまり、Isoは単一の刺激であるが、LPSは炎症を伴い種々の刺激物質を産生し、多くの因子が杯細胞の過形成に関与しているためと考えられる。そこで、LPS濃度を10 μ g/500 μ L、100 μ g/500 μ L及び1000 μ g/500 μ Lとしラットの気管内に投与した結果、濃度に依存した杯細胞の過形成がみられた。また、この成績でLPSの10 μ g/500 μ LはIso誘発モデル（図ホー1、2）の対照群と同程度の杯細胞数を示した。このことより、LPSの投与量を10 μ g/500 μ Lとして、フドステインと類薬を同時に比較した（図ホー8）。その結果、フドステインの10～100mg/kg経口投与は用量反応的に抑制作用を示した。L-カルボシステインの100mg/kg経口投与は抑制作用を示さなかったが、500mg/kg経口投与は有意な抑制作用を示した。また、塩酸アンブロキシソール100mg/kgも有意な抑制作用を示した。



図ホー 8 リポポリサッカライド誘発気道上皮杯細胞数の増加（過形成）に対するフドステイン及び市販去痰薬の予防効果

+: $p < 0.01$ vs 正常群 (Aspin-Welch t 検定)

**: $p < 0.01$ vs 対照群 (Dunnett の多重比較)

: $p < 0.05$ vs 対照群 (Aspin-Welch t 検定)

: $p < 0.01$ vs 対照群 (Student's t 検定)

n=7 (平均値±標準誤差)

v. 考 察

フドステインは、LPS 1 mg/500 μ L 誘発気道上皮杯細胞の過形成を、1 日 1 回 10mg/kg 以上の経口投与で有意に抑制したが、用量反応性は得られなかった。これは前述のように Iso に比較し LPS の方が強い杯細胞過形成病態モデルであったため薬物効果を得にくかったものと考えられる。

しかしながら、追加試験において LPS 濃度を 10 μ g/500 μ L に低くしたところ、フドステインの 10～100mg/kg 経口投与は用量反応的な抑制作用を示した。これは LPS 濃度を下げたことにより、刺激強度が减弱したために、用量反応性が得られたものと考えられ、フドステインの作用を評価するうえでは、追加試験の成績に基づくことが妥当であると判断した。この追加試験において、L-カルボシステインの 100mg/kg 経口投与は抑制作用を示さなかったが、500mg/kg 経口投与は有意な抑制作用を示した。このことより、杯細胞過形成に対する抑制作用の力価はフドステインの方が L-カルボシステインより強いものと考えられた。塩酸アンブロキシールの抑制作用は臨床用量と比較すると弱いものであった。

以上、フドステインは 10～100mg/kg の投与で LPS による杯細胞の過形成抑制を示したが、正常群レベルまで抑制することはなかった。一方、Iso 誘発モデルでの予備試験において、フドステインの 100 及び 500mg/kg 経口投与は正常群レベルまで抑制作用を示した。しかしながら、フドステインは 10mg/kg でも抑制作用がみられていること、フドステインの臨床用量は 8 mg/kg であること、フドステイン 500mg/kg を投与しても正常群レベルまでの抑制作用であることを勘案すると、臨床用量においてフドステインが、ムチンの気道炎症時に果たす合目的役割（ムチンの防御機構）は維持しているものと考えられる。