

## 亜硫酸ガス吸入によるラットの気管障害に対するカルボシステインの作用

### 1. 実験方法

体重 180~200g の Wistar 系雌性ラットを 1 群 10 匹として、300ppm の亜硫酸ガスを 1 回に 1 時間吸入させた後約 15 分間外気を吸わせ、この操作を 1 日 5 回、毎日繰り返した。カルボシステイン (0.5%メチルセルロースに懸濁) は亜硫酸ガス吸入開始後 16 日目 (延べ吸入時間 75 時間経過後) から 1 日 2 回 (1 回目の吸入直前および 5 回目の吸入終了後) 毎日経口投与した。31 日目 (亜硫酸ガス吸入時間延べ 150 時間) にラットを放血致死させ、気管を摘出して常法に従い光顕用標本を作製し、アルシアンブルー - 過ヨウ素酸シッフ (AB-PAS) 染色を施して検鏡した。

### 2. 実験結果

対照群では亜硫酸ガスの 150 時間の吸入により、繊毛の短小化、集簇あるいは消失がそれぞれ数例において認められ、円柱上皮細胞の重層化は全例で観察された。また、上皮細胞内の AB-PAS 染色部位、すなわち粘液分泌細胞の減少もみられた。

これら気管の萎縮変性に対し、カルボシステインは明らかな抑制作用を示した。

表 亜硫酸ガス吸入によるラットの気管障害に対する作用

実験群	N	気管障害				
		繊毛			円柱上皮細胞	AB-PAS 染色性
		短小	集簇	消失	重層	低下
コントロール	10	5	3	2	10	4
カルボシステイン 250mg/kg×2/day	10	0**	0	0	1***	0*

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001 対コントロール (x<sup>2</sup>-test)

### 3. 参考文献

原 三郎、細川常通 : 基礎と臨床, 13, 1974-1989, 1979

## 亜硫酸ガス誘発気管支炎ウサギの痰に対するカルボシステインの作用

### 1. 実験方法

体重 2kg 前後の日本白色種雄性ウサギに 300ppm の亜硫酸ガスを 1 日 3 時間、50 日間吸入させ気道炎を惹起した。このウサギを 48 時間絶食後、ウレタン (1g/kg, i. p.) 麻酔下で背位に固定し、気管を切開して気道液採取用のカニューレを挿入した。ウサギを背位に固定したまま 25 度の傾斜をもって頭部が低くなるようにし、流出してくる気道液を目盛り付き試験管に採取した。2 時間後、採取した気道液の体重当りの容量の平均が、各群ほぼ同一となるように 1 群 5 匹として 4 群に分け、0.5%メチルセルロースに懸濁したカルボシステインを経口投与した。カルボシステイン経口投与後 6 時間分の気道液について、容量、粘度、乾燥物質重量、蛋白質重量および糖質重量を測定した。

気道液の粘度はコーン-プレート型回転粘度計を用いて 37 度で測定し、乾燥物質重量は気道液 0.3mL を取り、凍結乾燥した後、その重量を測定して求めた。この凍結乾燥物質を蒸留水 2mL に溶解し、蒸留水 5L を外液として 4℃で 3 日間攪拌透析し、再び凍結乾燥して得られた凍結乾燥物質を蒸留水で溶解、希釈し、蛋白質重量および糖質重量をそれぞれローリー法およびフェノール-硫酸法により測定した。

なお、無処置正常群の気道液の粘度、乾燥物質重量、蛋白質重量および糖質重量は 5 匹分の気道液をあわせて測定し、参考データとした。

### 2. 実験結果

亜硫酸ガスを吸入させた対照群では、気道液の分泌量、粘度、乾燥物質重量、蛋白質重量および糖質重量は、正常動物のそれぞれ 3.3、2.5、4.3、4.4 および 4.2 倍に増加した。

これらの変化に対し、カルボシステインは分泌量にはほとんど影響を及ぼさなかったが、粘度の用量依存的な低下傾向を示し、乾燥物質重量、蛋白質重量および糖質重量に対しては 1000 および 2000mg/kg で有意差を示す用量依存的な低下作用が認められた。

以上の結果から、カルボシステインは亜硫酸ガス誘発気管支炎ウサギに対し、気道液 (痰) の組成を変化させることにより粘度を低下させ、去痰作用を示すものと考えられる。

表 亜硫酸ガス誘発気管支炎ウサギの痰に対する作用

薬物	用量 (mg/kg, p. o.)	N	分泌量 (mL/kg/6hr) 平均±S. E.	相対粘度 平均±S. E. [変化率(%)]	乾燥物質重量 (mg/mL) 平均±S. E. [変化率(%)]	蛋白質量 (mg/mL) 平均±S. E. [変化率(%)]	糖質量 (mg/mL) 平均±S. E. [変化率(%)]
(処置なし)	—	(5)	0.34±0.03	100 とする	9.0	6.1	0.5
コントロール	—	5	1.12±0.12	250±54	38.6±5.3	26.7±2.6	2.1±0.4
カルボ システイン	500	5	1.08±0.08	230±42 [8.0]	31.4±5.7 [18.7]	23.4±5.0 [12.4]	1.7±0.3 [19.0]
	1000	5	1.13±0.10	191±36 [23.6]	17.6±4.4* [54.4]	12.3±3.3** [53.9]	0.9±0.2* [57.1]
	2000	5	1.15±0.12	164±37 [34.4]	14.5±2.4** [62.4]	10.3±1.5*** [61.4]	0.7±0.1** [66.7]

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001 対コントロール (Student`s t-test)

### 3. 参考文献

Kase, V. et al : Japan. J. Pharmacol. **25**, 115P, 1975

古城健太郎ら : 日薬理誌, **77**, 569—578, 1981

## イヌの摘出気管における気管杯細胞、気管腺に対するカルボシステインの作用

### 1. 実験方法

体重 10kg 前後の雌雄雑種犬を用い、ペントバルビタールナトリウム (30mg/kg, i. v.) 麻酔下に頸部正中切開を行い、輪状軟骨-気管分岐部間の気管約 10cm を摘出した。気管を約 2cm の切片とし、95%O<sub>2</sub>+5%CO<sub>2</sub> 混合ガス通気下、37°C のハンクス液 20mL 中にて 30 分間 プレインキュベーションした後、プロピルグリコール-精製水-エタノール (6 : 17 : 2) 混液に溶解したカルボシステインを添加し、さらに 30 分間インキュベーションした。この気管片から常法に従って光顕用標本を作製し、アルシアンブルー - 過ヨウ素酸シッフ染色 (AB[pH2.5]-PAS 染色あるいは AB[pH1.0]-PAS 染色) を施して下記の項目について検鏡した。また、インキュベーション液中の総糖質、N-アセチルヘキソサミンおよび蛋白質量を、それぞれアンスロン法、Reissig 法およびフォーリン-フェノール法に準じて測定した。

#### 1) 杯細胞

##### (1) 組織学的指標

気管粘膜上皮 500  $\mu$ m 範囲内に点在する AB[pH2.5]-PAS 染色陽性総杯細胞数を測定した。

##### (2) 組織化学的指標

2 種の染色標本の色調の相違から、気管粘膜上皮 500  $\mu$ m 範囲内に点在する酸性糖蛋白含有杯細胞 (AB[pH2.5]-PAS ; 青、紫)、中性糖蛋白含有杯細胞 (AB[pH2.5]-PAS ; 赤) ならびに硫酸化糖蛋白含有杯細胞 (AB[pH1.0]-PAS ; 青、紫) を分別計数した。

#### 2) 気管腺

##### (1) 組織学的指標

気管粘膜固有層 (基底膜~軟骨層) の厚さ (W)、気管腺腺房の外径 (A<sup>0</sup>) および内径 (A<sup>1</sup>) を測定し、気管腺腺房の厚さ (A<sup>0</sup>-A<sup>1</sup>) および固有層の厚さに対する気管腺腺房内径の比率 (A<sup>1</sup>/W) を算出した。

##### (2) 組織化学的指標

2 種の染色標本の色調の相違から、酸性糖蛋白含有気管腺腺房細胞 (AB[pH2.5]-PAS ; 青、紫)、中性糖蛋白含有気管腺腺房細胞 (AB[pH2.5]-PAS ; 赤) ならびに硫酸化糖蛋白含有気管腺腺房細胞 (AB[pH1.0]-PAS ; 青、紫) を分別計数した。

#### 3) 統計処理

1 切片の気管から作製した標本の中から無作為に 5 標本を取り、1)-(1)、(2) および 2)-(1) の各項目についてはその 5 標本から得られた定量的結果の平均値を 1 実験分の値とし、

2)-(2)については 5 標本中の気管腺腺房数を総計し、これに対する各種組織化学的性質を示す気管腺腺房数の比率を求めて 1 実験分の値とし、いずれの項目に関しても 5 回の実験を行ってそれぞれ統計処理した。

## 2. 実験結果

カルボシステインは気管粘膜上皮の杯細胞に対して影響を及ぼさなかった (表 1)。

一方、気管腺腺房に対しては、濃度依存的な腺房の厚さの減少および粘膜固有層の厚さに対する腺房内径の比の増加を示し、気管腺の分泌活性を促進することが示唆された (表 2)。さらに、インキュベーション液中の総糖質、N-アセチルヘキソサミンおよび蛋白質量はカルボシステインの濃度依存的に増加し、気管腺分泌活性促進作用を支持する結果が得られた (表 4)。

また、気管腺の組織化学的検討において、カルボシステインは酸性あるいは中性糖蛋白含有腺房細胞数には影響を与えなかったが、硫酸化糖蛋白含有腺房細胞数を有意に減少させ、これは硫酸化糖蛋白高含有腺房細胞 (AB[pH1.0]-PAS ; 青) 数の減少ならびに硫酸化糖蛋白低含有腺房細胞 (AB[pH1.0]-PAS ; 紫) 数の増加を伴う変化であったことから、カルボシステインは粘性因子である酸性糖蛋白を組成する硫酸化糖蛋白の組成を変えることにより、分泌物のレオロジカルな性状を変化させるものと考えられた (表 3)。

表 1 気管杯細胞の組織学的・組織化学的变化

薬物	最終濃度 (M)	N	総杯細胞数 (個/500 μm) 平均±S. E.	酸性糖蛋白含有杯細胞数 (個/500 μm) 平均±S. E.	中性糖蛋白含有杯細胞数 (個/500 μm) 平均±S. E.	硫酸化糖蛋白含有杯細胞数 (個/500 μm) 平均±S. E.
コントロール	—	5	29.5±0.9	26.3±1.0	3.2±0.5	27.7±0.4
カルボシステイン	10 <sup>-6</sup>	5	29.9±0.7	26.8±0.8	3.2±0.5	28.1±0.4
	10 <sup>-5</sup>	5	30.1±1.1	26.8±1.0	3.3±0.4	27.4±0.3
	10 <sup>-4</sup>	5	29.5±1.0	26.4±0.8	3.0±0.5	27.9±0.4

表 2 気管腺腺房細胞の組織学的変化

薬物	最終濃度 (M)	N	腺房の厚さ (μm)		粘膜固有層の厚さに対する腺房内径の比 (10 <sup>-2</sup> )	
			平均±S. E.	変化率 (%)	平均±S. E.	変化率 (%)
コントロール	—	5	20.5±0.7	—	4.7±0.3	—
カルボシステイン	10 <sup>-6</sup>	5	20.2±0.7	-1.5	5.3±0.4	+12.8
	10 <sup>-5</sup>	5	18.5±0.4*	-9.8	5.8±0.2*	+23.4
	10 <sup>-4</sup>	5	16.1±0.7**	-21.5	6.4±0.2**	+36.2

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01 対コントロール (Student's t-test)

表3 気管腺腺房細胞の組織化学的变化

薬物	最終濃度 (M)	N	酸性糖蛋白含有気管腺腺房細胞数 (%) 平均±S. E.	中性糖蛋白含有気管腺腺房細胞数 (%) 平均±S. E.	硫酸化糖蛋白含有気管腺腺房細胞数 (%)		
					総数 平均±S. E. [変化率 (%)]	高含有細胞数 平均±S. E. [変化率 (%)]	低含量細胞数 平均±S. E. [変化率 (%)]
コントロール	—	5	86.5±1.1	13.5±1.1	84.4±1.9	66.5±1.8	17.9±1.2
カルボシステイン	10 <sup>-6</sup>	5	87.4±1.7	12.6±1.7	83.3±2.2 [-1.3]	59.0±1.1** [-11.3]	24.3±2.0* [+35.8]
	10 <sup>-5</sup>	5	84.5±1.0	15.5±1.0	78.8±1.3* [-6.6]	52.3±1.2*** [-21.4]	26.4±1.2** [+47.5]
	10 <sup>-4</sup>	5	85.3±1.9	14.7±1.9	73.5±1.5** [-12.9]	48.0±1.3*** [-27.8]	25.5±1.8** [+42.5]

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.01 対コントロール (Student`s t-test)

表4 インキュベーション液中の総糖質、N-アセチルヘキソサミンおよび蛋白質量

薬物	最終濃度 (M)	N	総糖質 (mg/mL) 平均±S. E. [変化率 (%)]	N-アセチルヘキソサミン (mg/mL) 平均±S. E. [変化率 (%)]	蛋白質 (mg/mL) 平均±S. E. [変化率 (%)]
コントロール	—	5	1.04±0.11	0.11±0.01	0.09±0.01
カルボシステイン	10 <sup>-6</sup>	5	1.05±0.13 [+1.0]	0.11±0.01 [+0.0]	0.11±0.01 [+22.2]
	10 <sup>-5</sup>	5	1.12±0.12 [+7.7]	0.15±0.02 [+36.4]	0.13±0.01* [+44.4]
	10 <sup>-4</sup>	5	1.37±0.14 [+31.7]	0.16±0.01* [+45.5]	0.14±0.01** [+55.6]

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01 対コントロール (Student`s t-test)

### 3. 参考文献

武田弘志ら：日薬理誌, **82**, 19-25, 1983

柳浦才三ら：日薬理誌, **77**, 559-568, 1981

## カルボシステインの粘液溶解作用

### 1. 実験方法

粘液としてブタ胃ムチン (Sigma) を tris-HCl 緩衝液 (pH8.2) に溶解して 20% 溶液としたものを用いた。このムチン溶液 2mL に tris-HCl 緩衝液 (pH9.6) に溶解したカルボシステイン溶液 1mL を加え pH6.0 に調整し、十分に混和して 37°C で 30 分間インキュベーションした。30 分間室温に放置した後、インキュベーション液の粘度を 23±0.5°C の条件下で測定した。

粘度はガラス板法により測定した。すなわち、大きさ 6×6cm、重量約 12g のガラス板の中心にインキュベーション液 0.04mL を置き、別の同様なガラス板を 5 度の角度から落下させ、液が直径 3.5cm の円を通過するのに要する時間 (秒) を測定して粘度とした。

### 2. 実験結果

カルボシステインは濃度依存的に粘液 (ブタ胃ムチン溶液) 溶解作用を示した。

表 粘液溶解作用

薬物	最終濃度 (M)	N	粘度 (秒) 平均±S. E.	粘度低下率 (%)
コントロール	—	5	35.6±1.2	—
カルボシステイン	10 <sup>-4</sup>	5	33.1±1.7	7.0
	10 <sup>-3</sup>	5	29.4±1.3**	17.4
	10 <sup>-2</sup>	5	24.6±1.0***	30.9
	10 <sup>-1</sup>	5	17.1±1.3***	52.0

\*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001 対コントロール (Student`s t-test)

### 3. 参考文献

三澤美和、今村直人：日薬理誌，**92**，263-270，1988