鼻粘膜自律神経受容体の治療による変化

石 塚 洋 一

Changes in Autonomic Nerve Receptors
in the Nasal Mucosa in Patients with
Allergic Rhinitis after Treatment

Yoichi Ishizuka

(Teikyo University School of Medicine, Mizonokuchi Hospital)

Autonomic nerve receptors and histamine H_1 receptors in the mucosa of the inferior nasal concha were determined by receptor binding assay in patients with allergic rhinitis, those with allergic rhinitis treated with an NSP nebulizer (NSP group), and controls with chronic sinusitis. The number of acetylcholine receptors was significantly higher in the patients with allergic rhinitis than in the control group and significantly lower in the NSP group than in the patients with allergic rhinitis. The numbers of α_1 receptors and β receptors in the patients with allergic rhinitis were significantly lower than in the control group but similar to those in the NSP group. The number of histamine H_1 receptors did not differ among the 3 groups.

Key words: allergic rhinitis, autonomic nerve receptor, histamine H_1 receptor, receptor binding assay

はじめに

鼻アレルギーの発症には自律神経機能の異常も深く関連している。近年、こうした自律神経状態を知るために組織の受容体を分子レベルで解析することが行われ、自律神経受容体の定量ができるようになった。これまでの研究によると鼻アレルギーではムスカリン作動性アセチルコリン受容体（以下アセチルコリン受容体）数は増加し、 α_1 、 β アドレナージック受容体（以下 α_1 、 β 受容体）数は減少していると言われている¹⁾。

さらに動物実験からは、卵白アルブミン感作実験的鼻アレルギーモルモットの鼻粘膜アセチルコリン受容体の増加は、抗アレルギー薬の投

与により抑制されたと報告されている²⁾。

そこで今回、鼻アレルギー患者の自律神経受容体の治療による変化について検討したので報告する。

対象と方法

対象は HD 鼻アレルギー患者 7 名（男子 4 名、女子 3 名、19~40 歳までで平均年齢 27.1 歳）、ノイロトロピン®（以下 NSP と略す）ネブライザー治療後の HD 鼻アレルギー患者 8 名（男子 6 名、女子 2 名、19~40 歳までで平均年齢 28.5 歳）である。なお NSP ネブライザーは NSP 特号注射液 1 アンプル 3 ml を通常のジェット型ネブライザーにて 3 分間、週に 2~3 回、4 週間投与した。NSP ネブュラ

イザー療法を施行した8名は全例が有効以上の症例である。対照群として慢性副鼻腔炎患者13名(男子10名, 女子3名, 22~45歳までで平均年齢31.8歳)である。全症例とも手術時に採取した下鼻甲介粘膜より受容体数の測定を行った。

測定方法は Ishibe ら³⁾の方法に準じた receptor binding assay 法を用いてアセチルコリン受容体, α_1 受容体, β 受容体, ヒスタミン H_1 受容体について検討した。

1) 粗 receptor 膜の作製法

ヒト鼻粘膜を Ishibe ら³⁾の方法を改変し図1に示す手順によりレセプター膜を調製した。すなわち鼻粘膜を氷冷 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) で洗浄して血液成分を除去し湿重量を秤量した。秤量後, 10 容量の氷冷 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) を加え, polytron (キネ・マチカ社製 PT10/35) を用いて homogenize し, ナイロンメッシュで粗大成分を除去した後, 濾液を 50000×g, 4°C で20分間遠心分離し, この操作を3回繰り返した。最終沈渣を incubation buffer (50 mM Tris-HCl buffer, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 2 mM, MgCl₂ 1 mM, pH 7.4) にて懸濁化させ, これをレセプター膜とした。

2) receptor binding assay (図2)

測定は Ishibe ら³⁾の方法を改変して行った。radioligand はアセチルコリン受容体, ヒスタ

ミン H_1 受容体, α_1 受容体および β 受容体の測定にはそれぞれ ³H-QNB, ³H-pyramine, ³H-prazosin および ³H-DHA を使用した。

アセチルコリン受容体の測定は H-QNB (0.25~4.0 nM) 100 μ l と鼻粘膜膜標本 (protein 量 350~600 μ l) 150 μ l とを incubation buffer の中で 25°C, 30分間 incubation した。次いで Whatman GF/F glassfiber filter を用い ³H-QNB 結合型と遊離型を分離し, 3 ml の氷冷 Tris-HCl buffer で3回洗浄後, filter をカウンティング・バイアルに入れ, 60°C で6~12時間乾燥した。冷却後, トルエンベースシンチレーターである Scintisol AL-1 (同仁化学) を 5 ml 加え, radioactivity を液体シンチレーションカウンター (Packard instrument Co. Inc. TRI-CARB 4640) で測定した。非特異的結合量は 2×10^{-6} M atropine 存在下の結合量より求め, total 結合量との差を特異的結合量とした。ヒスタミン H_1 受容体, α_1 受容体および β 受容体の測定は incubation 条件をそれぞれ 25°C, 30分間, 25°C, 40分間および 37°C, 10分間で行い, 非特異的結合量はそれぞれ 2×10^{-6} M の triprolidine, 10^{-5} M の phenolamine および 10^{-6} M の propranolol の存在下で求めた。また他の操作はアセチルコリン受容体の測定と同様にして行った。

蛋白量は Lowry ら⁴⁾の方法で定量し,

図1 粗 receptor 膜の作製法

図2 receptor binding assay

Scatchard plots⁵⁾ により maximum specific binding (Bmax) と親和性 (KD 値) を算出した。またすべての実験は duplicate で行った。

結 果

アセチルコリン受容体は、慢性副鼻腔炎の対照群が平均 161.9 ± 4.9 fmol/mg protein に比較し鼻アレルギー群の平均 258.8 ± 88.6 に有意に高値を示していた ($P < 0.05$)。

鼻アレルギー群と NSP 治療群を比較してみ

ると、NSP 治療群は平均 145.9 ± 37.1 fmol/mg protein と有意に低下 ($P < 0.05$) している (図 3)。

α_1 受容体は、対照群が平均 115.5 ± 42.4 fmol/mg protein に比較し鼻アレルギー群の平均は 67.3 ± 19.5 fmol/mg protein と有意に低値を示している ($P < 0.05$)。

鼻アレルギー群と NSP 治療群を比較してみると、NSP 治療群は平均 55.6 ± 7.2 fmol/mg protein と有意な差は認めない (図 4)。

図 3 鼻アレルギー治療によるアセチルコリン受容体の変化

図 4 鼻アレルギー治療による α_1 受容体の変化

図 5 鼻アレルギー治療による β 受容体の変化

図 6 鼻アレルギー治療によるヒスタミン H_1 受容体の変化

β 受容体は対照群が平均 89.2 ± 29.0 fmol/mg protein に比較し鼻アレルギー群の平均 48.2 ± 11.1 fmol/mg protein と有意に低値を示している。

鼻アレルギー群と NSP 治療群を比較してみると、NSP 治療群は平均 51.7 ± 15.3 fmol/mg protein と差は認めない (図 5)。

ヒスタミン H_1 受容体は、対照群 196.8 ± 59.2 fmol/mg protein, 鼻アレルギー群 249.8 ± 58.9 fmol/mg protein, NSP 治療群 179.3 ± 54.7 fmol/mg protein と各群に有意な差は認めない (図 6)。

アセチルコリン受容体, $\alpha_1 \cdot \beta$ 受容体, ヒスタミン H_1 受容体の KD 値は対照群, 鼻アレルギー群, NSP 治療群の間に有意な差は認めなかった。

考 察

NSP は、ワクシニアウィルスを接種した家兎の炎症性皮膚組織から分離抽出された多糖体である。古くからアレルギー性疾患の治療に注射剤として用いられてきた。近年、鼻アレルギーにも用いられその有効性が報告されている⁶⁾。NSP の薬理作用として、mast cell の脱顆粒や histamine 遊離を抑制し、アレルギー反応を起こしにくくさせるという作用が動物実験からも明らかにされている⁷⁾⁸⁾。また NSP の作用部位として中枢の他に自律神経末梢のアセチルコリン受容体に保護作用をもつといわれている⁹⁾。

鼻アレルギーの非特異的療法の一つとして、注射により投与されていた NSP は、作用機序から局所療法による効果も期待できるものと考えられる。これまでにわれわれは NSP を鼻アレルギーに対しネビュライザーにて局所投与し、有効以上 69.6% の有効率が得られたことを報告した¹⁰⁾。

このように臨床的にも、鼻アレルギーに対し NSP をネビュライザーにて使用し治療効果を認めたことから、NSP のネビュライザー療法における作用機序を解明する目的で、自律神経受容体とヒスタミン H_1 受容体を測定する基礎的

検討を行った。

その結果、鼻アレルギー患者のアセチルコリン受容体は対照群と比較し有意に高く、NSP 治療群は鼻アレルギー群に比較し有意に低かった。これは NSP ネビュライザー療法がアセチルコリン受容体の増加を改善させたものと思われる。しかし α_1 受容体, β 受容体は対照群に比較し、鼻アレルギー群で有意に低下していたが、NSP 治療群も同様に低下していた。

今回の研究において、アセチルコリン受容体は有意に上昇し、 $\alpha_1 \cdot \beta$ 受容体が鼻アレルギー群で有意に低下していた点はこれまでの報告¹⁾に一致している。さらに NSP 治療群のアセチルコリン受容体は鼻アレルギー群より有意に低下しており、抗アレルギー薬を用いて検討した寺田ら²⁾の動物実験の結果と同じ結果であった。またヒスタミン H_1 受容体は各群に有意な差はみられなかった。

自律神経受容体の変動に関しては、今野ら¹¹⁾はアセチルコリン受容体の変化は鼻腺分泌亢進、鼻粘膜血管拡張、好塩基性細胞の脱顆粒促進をおこし、 α_1 受容体の変化は鼻粘膜血管拡張を、 β 受容体の変化は好塩基性細胞脱顆粒を促進し、いずれも鼻過敏症状増悪の原因となると述べている。

自律神経受容体は鼻腺、鼻粘膜血管、好塩基性細胞などの細胞表面に分布している。

鼻アレルギーの鼻粘膜におけるアセチルコリン受容体の数の増加は、卵白アルブミン感作によって作製した IgE および γ_1 抗体関与の明らかな鼻アレルギーモルモット鼻粘膜において容易に再現できることから、このアセチルコリン受容体の数の増加は感作と過敏反応反復の結果と考えられている¹²⁾。

これらの点と、鼻アレルギーに NSP ネビュライザー療法が有効であったことを考え合わせると、NSP ネビュライザー療法は、自律神経系特にアセチルコリン受容体に作用し鼻過敏症状を軽減させたものと推察される。これは NSP ネビュライザー療法が鼻アレルギーの中でもく

しゃみ鼻汁型に効果が高かった¹⁰⁾ことを裏付ける結果となった。

まとめ

鼻アレルギー群、NSP ネビュライザー治療を行った鼻アレルギー群、対照群として慢性副鼻腔炎群それぞれの手術時に採取した下鼻甲介粘膜より、自律神経受容体とヒスタミン受容体について検討した。

1) アセチルコリン受容体は、鼻アレルギー群では対照群と比較し有意に多く、NSP 治療群では鼻アレルギー群と比較し有意に少なかった。

2) α_1 受容体、 β 受容体については、両者とも鼻アレルギー群では対照群と比較し有意に少なく、NSP 治療群では鼻アレルギー群と比較し差は認めなかった。

3) ヒスタミン H_1 受容体は、対照群、鼻アレルギー群、NSP 治療群とも有意な差は認めなかった。

以上のことより、アセチルコリン受容体の変化は鼻腺分泌亢進をおこすとされており、NSP ネビュライザー療法が鼻アレルギーの鼻過敏症状を軽減させたものと思われる。

稿を終るに臨み、本研究に御協力いただいた日本臓器生物活性科学研究所に感謝申し上げます。

本論文の要旨は、第12回日本医用エアロゾル研究会において報告した。

参考文献

- 1) 寺田修久, 今野昭義, 岡本美孝: ヒト鼻アレルギーおよび感作モルモットにおける鼻粘膜自律神経受容体について. 日耳鼻 88: 1153~1161, 1985.
- 2) 寺田修久, 今野昭義, 安藤英樹, 他: 卵白アルブミン感作鼻アレルギーモルモットにおける鼻粘膜ムスカリニック受容体の変化と薬物療法による影響. 日耳鼻 91: 847~855, 1988.
- 3) Ishibe T, Yamashita T, Kumazawa T, et al: Adrenergic and cholinergic receptors in human nasal mucosa in cases of nasal allergy. Arch Otorhinolaryngol 288: 167~173, 1983.
- 4) Lowry OH, Rosebrough NJ, Fall AL, et al: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265~275, 1951.
- 5) Scatchard G: The attractions of proteins for small molecules and ions. Ann NY Aca Sci 51: 660~672, 1949.
- 6) 奥田 稔, 打越 進, 海野徳二, 他: 鼻アレルギーに対するノイロトロピンの治療効果の検討. 耳鼻臨床 72: 779~799, 1979.
- 7) 柳原行義, 信太隆夫: Neurotropin の免疫薬理学的作用 (第3報) —抗アレルギー作用についての検討—. 日薬理誌 78: 589~597, 1981.
- 8) 江田昭英, 永井博式, 栗本芳行, 他: ノイロトロピン (NSP) のアレルギー反応に及ぼす影響. 日薬理誌 78: 319~334, 1981.
- 9) 泰多恵子, 浪松昭夫, 伊藤栄次, 他: 小腸ならびに精管の denervation-supersensitivity を用いた Neurotropin の作用解析. 脳研究会会誌 8: 52~53, 1982.
- 10) 石塚洋一, 木村元俊, 大西由紀, 他: 鼻アレルギーに対するノイロトロピンネビュライザー療法の効果—くしゃみ型を中心に—. 耳展 30: 103~106, 1987.
- 11) 今野昭義, 寺田修久, 伊藤永子: 鼻アレルギーと自律神経. アレルギー診療 5: 133~145, 1986.
- 12) 今野昭義, 寺田修久: 鼻アレルギーと鼻粘膜自律神経受容体. 耳鼻 31: 1263~1280, 1971.

(原稿採択: 昭和63年12月12日)

別刷請求先: 石塚洋一

〒213 川崎市高津区溝口74

帝京大学医学部耳鼻咽喉科学教室溝口病院)