Fenoterol の白血球ヒスタミン遊離反応に及ぼす影響

富田 有 祐*¹ 正 木 拓 朗*¹ 西 川 和 子*¹ 杉 本 日 出 雄*²
松 永 光 平*¹ 斎 藤 博 久*¹ 山 田 享*³ 荒 井 康 男*³
三 島 健*³ 塩 田 浩 政*³

(受付: 1980 年 12 月 18 日)

Effects of Fenoterol Hydrobromide on Histamine Release from
Human Leukocytes

Yusuke TOMITA*¹ Takuro MASAKI*¹ Kazuko NISHIKAWA*¹
Hideo SUGIMOTO*² Mitsuhiro MATSUNAGA*¹ Hirohisa SAITO*¹
Susumu YAMADA*³ Yasuo ARAI*³ Takeshi MISHIMA*³
and Hiromasa SHIODA*³

*¹ Department of Pediatrics, the Jikei University School of Medicine

*² Department of Pediatrics, National Higashi-Saitama Hospital

*³ Research Center for Rheumatology-Allergy, National Sagami Hospital

The effects of fenoterol and salbutamol on the allergen-induced histamine release from leukocytes were compared. Leukocytes used in this study were obtained from 24 children with bronchial asthma who were judged by questioning and skin test to have the offending allergen. For measurement of histamine, Pruzansky and Patterson's method, a modification of Shore and Anton's technique, was applied.

Fenoterol was superior to salbutamol in the rate of inhibition of the histamine release, no matter what stage in the process of histamine release the drug was added. Especially, the inhibitory rate of fenoterol was significantly higher than that of salbutamol in case where the drugs were added at the first stage.

The inhibition rates of the two drugs on histamine release were compared in the range from 10^{-3} M to 10^{-7} M. The result was that the inhibitory rate of fenoterol was higher than that of salbutamol in any concentration, significant difference

*¹ 東京慈恵会医科大学小児科学教室
〒105 東京都港区西新橋 3-25-8

*² 国立療養所東埼玉病院小児科

*³ 国立相模原病院リウマチ・アレルギー臨床研究部

being observed in 10^{-4} M and 10^{-5} M.

The findings as referred to above suggest that fenoterol, a bronchodilator, having such a strong action on the inhibition of release of chemical mediators, could be of great value in treating prolonged asthmatic attacks as it could be used for prophylaxis of asthmatic attacks.

Key words : bronchodilators, histamine release, anti-allergic drugs, fenoterol, salbutamol

緒 言

気管支喘息発作の発現機序は多様であるが、アレルギーの立場からは IgE 抗体と該当アレルゲンの抗原抗体反応によって mast cell から種々の chemical mediator が遊離され、これによって気管支平滑筋の収縮、血管壁透過性の亢進などが惹起されると説明されている。

近年、気管支喘息に対する治療剤の開発にはめざましいものがあるが、その主なものは気管支拡張剤と chemical mediator の遊離抑制剤であろう。気管支拡張剤は従来のものに比べ選択的 β_2 -stimulant となり、副作用も少なく、持続時間も長くなってきた。さらに最近では、気管支拡張作用ばかりでなく chemical mediator 遊離抑制作用も従来の薬剤に比較し強いものが開発されてきた。

本研究では、最近 C. H. Boehringer Sohn 社によって開発され、臨床効果についても検討されつつある気管支拡張剤 fenoterol hydrobromide (Berotec, 以下 fenoterol と略) の該当アレルゲンによる白血球からのヒスタミン遊離に及ぼす影響について salbutamol と比較検討した。Fenoterol の化学構造は Fig.1 のごとくであり、orciprenaline より誘導されたものである。

実験方法

1. 実験対象

ヒスタミン遊離反応に用いた白血球は、詳細な問診、皮膚反応から該当アレルゲンを推定できた気管支喘息児 24 名から得た。対象の年齢ならびに臨床的背景は Tab.1 のごとくである。

Fig. 1 Chemical structures of fenoterol hydrobromide and salbutamol sulfate.

2. Tris buffer および Tris CM buffer の作製
白血球の洗浄、アレルゲンおよび fenoterol (以下 Feno と略す), salbutamol (以下 Salb と略す) の溶解希釈ならびにヒスタミン遊離反応に用いた Tris buffer および Tris CM buffer は May et al. の方法¹⁾に準じて作製した。すなわち、Tab.2 のごとく実際に使用する濃度より 10 倍高濃度の Tris buffer と 100 倍高濃度の Ca^{++} および Mg^{++} 液を作製し、使用時に 3 回蒸留した水で希釈した。

3. アレルゲン液の作製

実験に用いたアレルゲンは mite ($29.08 \mu\text{g}/\text{mg}$ PNU) および short ragweed ($12.12 \mu\text{g}/\text{mg}$ PNU) で、これらのアレルゲン原末(トリイ薬品)を Tris buffer および Tris CM buffer で $2 \times 10^{-2} \mu\text{g}/\text{ml}$ (protein nitrogen) の濃度に溶解した。

4. Fenoterol 液および salbutamol 液の作製

Feno および Salb 原末を Tris buffer および Tris CM buffer で 2×10^{-2} M, 2×10^{-3} M, 2×10^{-4} M, 2×10^{-5} M, 2×10^{-6} M の濃度に溶解し

Tab. 1 対象症例の背景

症例 No.	年齢 (歳)	罹病期間 (年)	該 当 アレルゲン	皮膚反応閾値	減感作 療 法	症例 No.	年齢 (歳)	罹病期間 (年)	該 当 アレルゲン	皮膚反応閾値	減感作 療 法
1	13	3	mite	100万倍以上	—	13	13	4	mite	100万倍以上	—
2	12	5	mite	100万倍以上	—	14	14	5	mite	100万倍以上	—
3	13	4	mite	100万倍以上	—	15	12	4	mite	100万倍以上	—
4	13	5	mite	100万倍以上	—	16	13	4	mite	10万倍	+
5	11	3	mite	100万倍以上	—	17	11	4	mite	100万倍以上	—
6	12	3	mite	100万倍以上	—	18	12	4	mite	10万倍	—
7	13	5	mite	100万倍以上	+	19	11	3	mite	100万倍以上	—
8	12	3	mite	100万倍以上	—	20	11	4	mite	100万倍以上	+
9	11	4	mite	10万倍	+	21	11	3	SR	100万倍以上	—
10	13	4	mite	100万倍以上	—	22	12	5	mite	100万倍以上	—
11	14	3	mite	100万倍以上	—	23	13	4	SR	100万倍以上	—
12	12	5	mite	100万倍以上	—	24	13	4	SR	100万倍以上	—

SR : Short Ragweed

Tab. 2 Content and Dilution of Buffer

10 × Tris buffer		
1. Trisma 7.6	3.75g	} 100ml
2. NaCl	6.95g	
3. KCl	370mg	
4. distilled water		
100 × Ca ⁺⁺		
1. CaCl ₂ ·2H ₂ O	900mg	} 100ml
2. distilled water		
100 × Mg ⁺⁺		
1. MgCl ₂ ·6H ₂ O	2.35g	} 100ml
2. distilled water		
	Tris	Tris CM
10 × Tris	10ml	10ml
100 × Ca ⁺⁺	0ml	1ml
100 × Mg ⁺⁺	0ml	1ml
distilled water		
	100ml	100ml

た。

5. 白血球浮遊液の作製

May らの方法¹⁾に準じて行った。すなわち、
ディスポーサブルシリンジにヘパリン (sodium

heparin 1,000 μ g/ml) を入れ、肘静脈から採血し、よく攪拌したのち 3% dextran (dextran 250 を 0.9% NaCl で溶解) を血液 10 ml につき 2 ml の割合で加え、再び攪拌して垂直に室温で約 30 min 放置した。次に plasma leukocyte 層を押し上げるようにしてプラスチックあるいはシリコン処理した小試験管に移し、184 G で 10 min 遠心して plasma 層を除き、次いで細胞を Tris buffer あるいは Tris CM buffer で 3 回洗浄し、同一の buffer に再浮遊させた。

6. ヒスタミン遊離反応 (Fig. 2)

気管支喘息児の静脈血 10~20 ml から作製した白血球浮遊液とアレルゲンおよび fenoterol 液, salbutamol 液との incubation は Pruzansky and Patterson の変法²⁾³⁾を用いた。

1). アレルゲンによる特異的ヒスタミン遊離

Tris CM buffer に浮遊させた白血球液 1.8 ml を小試験管に入れ、これに Tris CM buffer で溶解したアレルゲン液 0.1 ml と Tris CM buffer 0.1 ml を加えて 2 ml にし、37°C で 60 min incubation した。次いで 6 min 遠心 (0°C, 415 G) して

Fig. 2 Schematic diagram for measuring histamine release from human leukocytes and the effects of drugs (fenoterol and salbutamol) on it. For the control, a vehicle was added instead of drugs.

T : Tris buffer, TCM : Tris CM buffer, Ag : antigen

supernatant (SUP) と cell pellet (cell) に分け、SUP には除蛋白液 4.4 N $\cdot$ HClO₄ 0.2 ml を加え、cell には Tris CM buffer 2 ml を入れた後、除蛋白液 0.2 ml を加え、再び 10 min 遠心 (0°C, 737 G) して、それぞれの上澄中のヒスタミン量を測定し、下記の式によって特異的ヒスタミン遊離率を求めた。

%histamine release

$$= \frac{\text{SUP 中のヒスタミン量}}{\text{SUP 中のヒスタミン量} + \text{cell 中のヒスタミン量}} \times 100$$

2) 特異的ヒスタミン遊離に対する fenoterol および salbutamol の影響

ヒスタミン遊離過程は Ca^{++} 非依存性の first stage, Ca^{++} およびエネルギー依存性の second stage からなるので、stage 別に Feno および Salb の影響を検討した。

a. Whole stage における影響

Tris CM buffer に浮遊させた白血球液 1.8 ml にアレルゲン液 0.1 ml と Tris CM buffer で溶解した Feno 液あるいは Salb 液 0.1 ml を加え、37°C で 60 min incubation し、次いで 6 min 遠心 (0°C, 415 G) して SUP と cell に分け、以後の操作は特異的ヒスタミン遊離と同様に行って、ヒスタミン遊離率を求め、アレルゲンによる特異的ヒスタミン遊離に対する Feno または Salb の抑制率を次式によって計算した。

Fig. 3 Method for the fluorometric assay of histamine.

%inhibition of specific histamine release

$$= \frac{\frac{\% \text{release without drug} - \% \text{release with drug}}{\% \text{release without drug}}}{\% \text{release without drug}} \times 100$$

* : specific histamine release after challenge with offending allergen

b. First stage における影響

Tris buffer に浮遊させた白血球液を 2 本の小試験管にそれぞれ 1.8 ml ずつ入れ、両者に Tris buffer で溶解したアレルゲン液を 0.1 ml ずつ、Tris buffer で溶解した Feno 液または Salb 液を 0.1 ml ずつ入れ、一方は 0°C, 90 min, 他方は 37°C,

3 min incubation した。次いで Tris buffer で 2 回洗浄し、Tris CM buffer 2 ml に再浮遊させ 37°C で 60 min incubation した後、6 min 遠心 (0°C, 415 G) して supernatant と cell pellet に分け、以後の操作、計算は whole stage の場合と同様に行い、Feno および Salb の first stage における特異的ヒスタミン遊離率に対する抑制率を求めた。

c. Second stage における影響

Tris buffer に浮遊させた白血球液を 2 本の小試験管にそれぞれ 1.8 ml ずつ入れ、両者に Tris buffer で溶解したアレルゲン液 0.1 ml ずつ、Tris buffer を 0.1 ml ずつ入れ、一方は 0°C, 90 min, 他

Tab. 3 Effects of Fenoterol (10^{-3} M) and Salbutamol (10^{-3} M) on Histamine Release from Human Leukocytes after Incubation with Offending Allergen

Case No.	Offending allergen	Specific release	% Inhibition of histamine release									
			whole stage		1st stage				2nd stage			
					37°C, 3min		0°C, 90min		37°C, 3min		0°C, 90min	
			FENO	SALB	FENO	SALB	FENO	SALB	FENO	SALB	FENO	SALB
1.	mite	42.0%	42.9%	40.5%	70.2%	63.1%	69.0%	61.9%	53.6%	50.0%	52.4%	50.0%
2.	mite	31.5	30.2	20.6	52.4	52.4	50.5	47.6	34.9	30.2	36.5	33.3
3.	mite	30.0	20.0	10.0	53.3	43.3	56.7	46.7	20.0	13.3	26.7	18.3
4.	mite	51.0	18.6	22.4	51.0	56.9	59.8	56.9	23.5	31.4	23.5	28.4
5.	mite	66.0	32.6	36.7	53.8	54.5	53.8	54.5	33.3	39.4	33.3	37.1
6.	mite	30.0	21.7	17.3	48.0	40.0	50.0	38.0	31.7	26.7	33.3	33.3
7.	mite	39.0	7.2	5.4	44.9	49.5	49.2	48.7	11.8	7.7	11.5	5.9
8.	mite	56.5	33.6	35.2	61.6	61.6	59.3	59.3	29.2	31.0	29.2	31.3
9.	mite	21.0	2.4	0	4.8	7.6	4.8	7.6	0	0	0	0
10.	mite	57.4	29.3	19.3	64.8	55.2	65.2	54.7	21.6	16.6	22.5	16.4
11.	mite	52.0	24.8	25.0	62.1	62.3	63.5	62.9	19.2	19.2	19.2	19.2
12.	mite	39.2	10.2	9.7	46.9	43.9	50.3	44.4	14.8	13.3	14.0	13.3
13.	mite	77.3	69.6	70.2								
14.	mite	42.5	71.8	64.7								
15.	mite	38.2	67.3	67.3								
16.	mite	15.0	6.7	6.7								
17.	mite	32.0	68.8	70.3								
18.	mite	18.9	0	0								
19.	mite	48.0	46.9	47.9								
20.	mite	36.7	65.9	65.9								
21.	SR	50.3	68.4	68.2								
22.	mite	43.6	67.4	67.9								
23.	SR	54.4	67.5	67.8								
24.	SR	49.2	72.4	70.5								
Mean±S.D.	—	—	39.43 ±25.84	37.89 ±26.62	51.15 ±16.53	49.19 ±15.17	52.68 ±16.44	48.60 ±14.93	24.47 ±13.55	23.23 ±14.16	25.18 ±13.52	23.88 ±14.22
Mean±S.D. (30%↑)	—	—	44.62 ±23.24	42.99 ±24.40	55.36 ±8.14	52.97 ±8.02	57.03 ±6.88	52.33 ±7.86	26.69 ±11.69	25.35 ±12.71	27.46 ±11.49	26.05 ±12.66

30%↑ : Specific release over 30%, SR : Short Ragweed, FENO : Fenoterol, SALB : Salbutamol

方は 37°C, 3 min incubation した。次いで Tris buffer で 2 回洗浄し, Tris CM buffer 1.9 ml に再浮遊させ, これに Tris CM buffer に溶解した Feno 液または Salb 液 0.1 ml を加え, 37°C で 60 min incubation し, 次いで 6 min 遠心 (0°C, 415 G) して supernatant と cell pellet に分け, 以後の操作, 計算は whole stage の場合と同様に行い, Feno または Salb の second stage における特異的ヒスタミン遊離率に対する抑制率を求めた。

7. ヒスタミンの抽出測定

ヒスタミンの抽出測定は Shore⁴⁾, Anton⁵⁾の変法である Pruzansky and Patterson の方法²⁾³⁾を用いた。すなわち, Fig. 3 のごとく 4.4 N・HClO₄ で除蛋白した検体をプラスチック製の遠心管に移し, これに NaCl 2 g, n-butanol 8 ml, 7.4 N・NaOH 0.2 ml を加えて 20 sec mixer で攪拌した。次に遠心して butanol 層を分離し, これに 0.1 N・HCl 1.7 ml と n-heptane 5 ml を加え, 再び 20 sec 攪拌し, 遠心して HCl 層 1.3 ml を分離した。HCl 層に 4 N・NaOH 0.07 ml を加えた後 0.1%OPT(メタノールで溶解したもの)0.05 ml を縮合させ, 正確に 4 min 後に 2 M・citric acid 0.14 ml を加え, 分光蛍光光度計 (励起波長 360

mμ, 蛍光波長 450 mμ) で測定した。

実験成績

24 例の気管支喘息患児より得た白血球浮遊液に該当アレルゲン液を最終濃度として 10⁻³ μg/ml (protein nitrogen) 添加した場合の特異的ヒスタミン遊離率をみると, Tab. 3 のごとく最高 77.3 %, 最低 15.0%であるが, 非特異的遊離率を考慮して, 特異的遊離率 30%以上の症例について Feno および Salb の影響について検討した。なお検定は t-test によった。

1. Whole stage における影響

1) Whole stage における Feno および Salb のヒスタミン遊離抑制率の検討 (Tab. 3)。

Whole stage において Feno または Salb を 10⁻³ M 添加した場合のヒスタミン遊離抑制率は, 特異的遊離率 30%以上の 21 例についてそれぞれ 44.62±23.24%, 42.99±24.40% (Mean±S. D., 以下同様) であり, Feno の抑制率が高かった (P<0.01)。

2) Whole stage における Feno および Salb のヒスタミン遊離抑制に対する用量依存的効果の検討 (Tab. 4)。

Tab. 4 Effects of Fenoterol and Salbutamol on Antigen-induced Histamine Release from Human Leukocytes in Whole Stage

Case No.	Offending allergen	Specific release	% Inhibition of histamine release									
			10 ⁻³ M		10 ⁻⁴ M		10 ⁻⁵ M		10 ⁻⁶ M		10 ⁻⁷ M	
			FENO	SALB	FENO	SALB	FENO	SALB	FENO	SALB	FENO	SALB
13.	mite	77.3%	69.6%	70.2%	69.0%	70.2%	69.0%	69.0%	67.7%	67.0%	65.2%	65.1%
14.	mite	42.5	71.8	64.7	71.8	63.5	71.8	64.7	71.8	63.5	71.8	60.0
15.	mite	38.2	67.3	67.3	66.2	66.0	66.0	66.0	66.0	66.0	60.7	58.1
17.	mite	32.0	68.8	70.3	68.8	68.8	65.0	62.5	62.5	62.5	57.8	56.3
19.	mite	48.0	46.9	47.9	45.8	42.7	45.8	39.6	42.1	36.5	39.6	28.1
20.	mite	36.7	65.9	65.9	64.6	61.9	64.6	60.5	60.5	61.9	56.4	59.1
21.	SR	50.3	68.4	68.2	68.2	65.6	68.2	64.2	67.2	64.2	59.6	57.1
22.	mite	43.6	67.4	67.9	65.6	64.2	60.8	61.0	60.3	60.1	54.8	55.3
23.	SR	54.4	67.5	67.8	66.9	66.9	66.9	66.5	66.0	66.0	62.3	62.3
24.	SR	49.2	72.4	70.5	71.5	69.5	68.5	69.5	68.7	68.5	67.5	67.5
Mean ± S.D. n = 10			66.60 ±7.21	66.07 ±6.66	65.84 ±7.43	63.93 ±7.92	64.66 ±7.26	62.35 ±8.55	63.28 ±8.28	61.62 ±9.18	59.57 ±8.74	56.89 ±10.84
			N S		P<0.05 FENO>SALB		P<0.05 FENO>SALB		N S		N S	

FENO : Fenoterol, SALB : Salbutamol, SR : Short Ragweed

Tab. 5 Effects of Fenoterol (10^{-3} M) and Salbutamol (10^{-3} M) on Antigen-induced Histamine Release from Human Leukocytes

Case No.	Offending allergen	Specific release	% Inhibition of histamine release									
			whole stage		1st stage				2nd stage			
					37°C, 3min		0°C, 90min		37°C, 3min		0°C, 90min	
			FENO	SALB	FENO	SALB	FENO	SALB	FENO	SALB	FENO	SALB
1	mite	42.0%	42.9%	40.5%	70.2%	63.1%	69.0%	61.9%	53.6%	50.0%	52.4%	50.0%
2	mite	31.5	30.2	20.6	52.4	52.4	50.5	47.6	34.9	30.2	36.5	33.3
3	mite	30.0	20.0	10.0	53.3	43.3	56.7	46.7	20.0	13.3	26.7	18.3
4	mite	51.0	18.6	22.4	51.0	56.9	59.8	56.9	23.5	31.4	23.5	28.4
5	mite	66.0	32.6	36.7	53.8	54.5	53.8	54.5	33.3	39.4	33.3	37.1
6	mite	30.0	21.7	17.3	48.0	40.0	50.0	38.0	31.7	26.7	33.3	33.3
7	mite	39.0	7.2	5.4	44.9	49.5	49.2	48.7	11.8	7.7	11.5	5.9
8	mite	56.5	33.6	35.2	61.6	61.6	59.3	59.3	29.2	31.0	29.2	31.3
10	mite	57.4	29.3	19.3	64.8	55.2	65.2	54.7	21.6	16.6	22.5	16.4
11	mite	52.0	24.8	25.0	62.1	62.3	63.5	62.9	19.2	19.2	19.2	19.2
12	mite	39.2	10.2	9.7	46.9	43.9	50.3	44.4	14.8	13.3	14.0	13.3
Mean $\pm$ S.D. n = 11			24.65 ± 10.53	22.01 ± 11.59	55.36 ± 8.14	52.97 ± 8.02	57.03 ± 6.88	52.32 ± 7.86	26.69 ± 11.69	25.35 ± 12.71	27.46 ± 11.49	26.05 ± 12.66
			N S		N S		P < 0.01 FENO > SALB		N S		N S	

FENO : Fenoterol, SALB : Salbutamol

Whole stage において Feno および Salb を 10^{-3} M から 10^{-7} M まで添加し、ヒスタミン遊離抑制率の用量依存的効果を、特異的遊離率 30% 以上の 10 例について比較したところ、 10^{-3} M では Feno $66.60 \pm 7.21\%$, Salb $66.07 \pm 6.66\%$, 10^{-4} M では Feno $65.84 \pm 7.43\%$, Salb $63.93 \pm 7.92\%$, 10^{-5} M では Feno $64.66 \pm 7.26\%$, Salb $62.35 \pm 8.55\%$, 10^{-6} M では Feno $63.28 \pm 8.28\%$, Salb $61.62 \pm 9.18\%$, 10^{-7} M では Feno $59.57 \pm 8.74\%$, Salb $56.89 \pm 10.84\%$ であり、 10^{-3} M ~ 10^{-7} M の範囲では両薬剤とも明らかな用量依存的効果は認められなかった。一方、 10^{-4} M, 10^{-5} M における Feno の抑制率は Salb に比し有意に高い ($P < 0.05$) ことが認められたが、 10^{-3} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M では薬剤間に有意差を認めなかった。

2. First stage における影響 (Tab. 5)

白血球、アレルゲンと薬剤との incubation を 37°C , 3 min と 0°C , 90 min 行い特異的遊離率に対する影響を検討した。 37°C , 3 min incubation の場合のヒスタミン遊離抑制率は Feno $55.36 \pm 8.14\%$, Salb $52.97 \pm 8.02\%$ であり、 0°C , 90 min の

場合は Feno $57.03 \pm 6.88\%$, Salb $52.32 \pm 7.86\%$ で、いずれの場合にも Feno の抑制率が優れていた。とくに、 0°C , 90 min incubation の場合には Feno の抑制率が Salb に比し有意に優れていた ($P < 0.01$)。

3. Second stage における影響

白血球とアレルゲンとの incubation を 37°C , 3 min と 0°C , 90 min 行い、その後薬剤を添加し 37°C , 60 min incubation した場合の特異的遊離率に対する影響を検討した。 37°C , 3 min incubation の場合のヒスタミン遊離抑制率は Feno $26.69 \pm 11.69\%$, Salb $25.35 \pm 12.71\%$ であり、 0°C , 90 min の場合は Feno $27.46 \pm 11.49\%$, Salb $26.05 \pm 12.66\%$ で、いずれの場合にも Feno の抑制率が優れていたが、薬剤間に有意差は認められなかった。

総括ならびに考按

最近、気管支拡張剤の開発改良はめざましく、従来の薬剤とくらべ優れた選択的 β_2 -stimulant 作用をもち、心脈管系に対する副作用なども少なく、作用持続時間も長いものが開発されるように

なった。Fenoterol もこれら特徴をそなえた新しい気管支拡張剤の1つであり、その臨床効果についてもすでに多くの報告がみられる^{6)~8)}。本剤に関する基礎的研究の中で注目すべきものとしては、抗アレルギー作用に関する報告が比較的多いことであろう。

Fügner⁹⁾ はラットに抗卵白アルブミン抗体をつくり、これではかのラットを被動感作し、この感作されたラットの腸間膜 mast cell の卵白アルブミン静注による脱顆粒現象が fenoterol によって用量依存的に抑制され、しかもその抑制効果が salbutamol の 5.5 倍であることを in vivo の実験で証明している。また彼は同様に被動感作したラットに、本剤、salbutamol, isoproterenol, disodium cromoglycate を静脈内投与した後、卵白アルブミンを静注し、ヒスタミン遊離の抑制率を比較したところ、その抑制率は本剤、salbutamol, isoproterenol, disodium cromoglycate の順であったことも報告している¹⁰⁾。

またヒトにおいても Jorde ら¹¹⁾によって抗アレルギー作用が報告されている。すなわち、該当アレルギーによる誘発試験陽性のアレルギー性鼻炎患者 70 名に fenoterol 100 μ g をあらかじめ鼻内投与し誘発試験を行ったところ、64 名に臨床症状がみられなかったという。また 10 名のアレルギー性鼻炎患者を 5 名ずつ 2 群に分け、一方に fenoterol 100 μ g をあらかじめ鼻内投与し、他方には投与しないでアレルギー誘発を行い、時間の経過を追って nasal flow resistance をみると、fenoterol 前処置群において明らかに nasal flow resistance の増加が阻止されることを実証した。

また Booij-Noord ら¹²⁾はハウスダストに過敏な 6 名の気管支喘息患者に fenoterol を 0.08 mg 筋注することにより、ハウスダスト吸入による FEV_{1.0} の低下が抑制されることを報告している。

さらに Weinberg ら¹³⁾は運動負荷喘息の予防効果もあることを報告している。運動負荷喘息の発症機序はいまだ不明な点が多くあるが、運動によって chemical mediator が遊離されることも原因の 1 つと考えられており、本剤は非免疫学的

機序による chemical mediator の遊離を抑制する作用もあることが想像される。

このように、本剤は抗アレルギー作用、chemical mediator 遊離抑制作用が確認されているが、ヒト白血球を使った in vitro の実験で chemical mediator 遊離に対する影響について検討した報告はいまだみられない。

該当アレルギーによるヒスタミン遊離機構は Lichtenstein¹⁴⁾ の報告にみられるごとく、Ca⁺⁺ 非依存性の first stage と、Ca⁺⁺ とエネルギー依存性の second stage からなり、その遊離と制御機構には cyclic nucleotide が関与していると考えられている。各種薬剤のヒスタミン遊離抑制効果はヒスタミン遊離過程のどの stage に添加したかによっても異なる。すなわち、catecholamine 系薬剤、methylxanthines, prostaglandin E₁ など細胞内 cyclic AMP の蓄積をもたらし薬剤は主として first stage に働いてヒスタミン遊離を抑制し、glucose の磷酸化を阻害する 2-deoxyglucose は second stage に働いてヒスタミン遊離を抑制するといわれている¹⁵⁾。

本研究では病歴聴取、アレルギー皮膚反応などから、該当アレルギーの明らかな気管支喘息児から白血球を分離し、これに該当アレルギーを添加した場合のヒスタミン遊離が fenoterol と salbutamol によってどの程度抑制されるかについて検討を行った。その結果、whole stage において Feno および Salb を最終濃度として 10⁻³ M 添加した場合の抑制率を比較すると、Feno 44.62 ± 23.24% に対し Salb 42.99 ± 24.40% であり、Feno の抑制率が高かった (P < 0.10)。また whole stage において両薬剤を 10⁻³ M から 10⁻⁷ M まで添加し検討したが、この濃度範囲では両薬剤とも明らかな用量依存的効果は認められなかった。濃度別に両薬剤の抑制率を比較すると、10⁻³ M では有意差なく、10⁻⁴ M、10⁻⁵ M では Feno の抑制率が Salb に比し有意に優れていた (P < 0.05)。しかし、10⁻⁶ M、10⁻⁷ M では両薬剤の抑制率に有意差は認められなかった。

First stage においては白血球と該当アレルギー

ンおよび薬剤との incubation を 37℃, 3 min と 0℃, 90 min の 2 通り行ったが, とくに 0℃, 90 min の場合の抑制率は Feno 57.03±6.88%, Salb 52.32±7.86% で, Feno の抑制率が有意に高いことが認められた ($P < 0.01$). なお 37℃, 3 min の場合は Feno 55.36±8.14%, Salb 52.97±8.02% で両薬剤の抑制率に有意差を認めなかった.

Second stage においても白血球と該当アレルギーの incubation を 37℃, 3 min と 0℃, 90 min の 2 通り行い, その後に薬剤を添加して抑制率を比較したが, 前者では Feno 26.69±11.69%, Salb 25.35±12.71%, 後者では Feno 27.46±11.49%, Salb 26.05±12.66% であり, 薬剤間に有意差は認められなかった.

以上, whole stage の 10^{-4} M, 10^{-5} M で Feno の抑制率が有意に高く, stage 別検討 (10^{-3} M) では first stage (0℃, 90 min) で Feno の抑制率が有意に高かったが, 抑制率の差は 2~5% であり, Feno と Salb は同程度の抑制を示すと考えた方がよいかも知れない.

また, whole stage における Feno のヒスタミン遊離抑制率は 10^{-7} M で 56.9% であった. ヒトに Feno の通常臨床用量を経口投与した際の投与後 2 hr の血中濃度は 10^{-7} M に相当することが示されており¹⁶⁾, この濃度で高率にヒスタミン遊離を抑制したことは意義あることと考えられた.

さらに, stage 別検討では, first stage において抑制率が高いことが判明した. First stage において抑制率が高いことはほかの catecholamine 系薬剤と同一であり, 本剤のヒスタミン遊離抑制機序は cyclic AMP を介するものと思われる.

気管支拡張剤の主目的は気管支拡張作用であるが, chemical mediator 遊離抑制作用が強いことは発作予防剤の目的にも使用でき, 持続する気管支喘息発作の治療薬として極めて有用であると考えられる.

結 語

該当アレルギーによる白血球ヒスタミン遊離反応に対する fenoterol の影響を salbutamol と比

較検討し, 以下の成績を得た.

1. Fenoterol はヒスタミン遊離過程のいずれの stage に添加した場合も salbutamol より遊離抑制率が高く, とくに first stage に添加した場合には有意に抑制率の高いことが認められた.

2. 10^{-3} M~ 10^{-7} M の範囲で両薬剤の抑制率を比較したところ, いずれの濃度においても fenoterol の抑制率が高く, とくに 10^{-4} M, 10^{-5} M において fenoterol の抑制率が有意に高いことが認められた.

本研究は昭和 53 年 10 月から昭和 54 年 4 月までの間に実施した.

文 献

- 1) May, C. D., Lyman, M., Alberto, R. and Cheng, J.: Procedures for immunochemical study of histamine release from leukocytes with small volume of blood. *J. Allergy*, **46**: 12-20 (1970).
- 2) Pruzansky, J. J. and Patterson, R.: Histamine release from leukocytes of hypersensitive individuals. 1. Use of several antigens. *J. Allergy*, **38**: 315-320 (1966).
- 3) 富田有祐, 塩田浩政: ヒスタミン遊離反応の実験手技. *小児外科・内科*, **7**: 469-479 (1976).
- 4) Shore, P. A., Burkhalter, A. and Cohn, V. H. Jr.: A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **127**: 182-186 (1959).
- 5) Anton, A. H. and Sayre, D. F.: A modified fluorometric procedure for tissue histamine and its distribution in various animals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **166**: 285-292 (1969).
- 6) 滝島任, 佐々木孝夫, 岩崎由雄ほか: 新しい持続性気管支拡張薬ベロテックエロゾルの治験成績—二重盲検交差法による検討—. *臨床と研究*, **53**: 197-214 (1976).
- 7) 佐竹辰夫, 小川暢也ほか: 気管支喘息に対する fenoterol の臨床効果の検討—Orciprenaline との二重盲検比較試験—. *日本胸部臨床*, **38**: 923-935 (1979).
- 8) 小田禎一, 小川暢也ほか: 小児気管支喘息に対する Fenoterol の臨床評価—Terbutaline との二重盲検比較試験—. *小児科臨床*, **32**: 2299-2308 (1979).
- 9) Fügner, A.: An improved method for the study of reagin-mediated mast cell degranulation in rats. *Experientia*, **29**: 708-710

- (1973).
- 10) Fügner, A. : Inhibition of antigen-induced histamine release by beta-adrenergic stimulants in vivo. *Int. Archs Allergy Appl. Immunol.*, **54** : 78-87 (1977).
 - 11) Jorde, W., Bohlmann, H.-G., Linsenmann, P. und Werdemann, K. : Protektive Wirkung von beta-adrenergen Substanzen bei der allergischen Rhinitis. *Med. Klin.*, **70** : 1314-1316 (1975).
 - 12) Booijs-Noord, H., Quanjer, Ph. H. und de Vries, K. : Protektive Wirkung von Berotec bei Provokationstesten mit spezifischer Allergeninhalation und Histamin. *Int. J. Clin. Pharmacol., Suppl.* **4** : 69-72 (1972).
 - 13) Weinberg, E. G., Shore (Lorn), S. C. and Marshall, S. : The effect of fenoterol (Berotec) on exercise-induced asthma in children. *Med. Proc.*, **18** : 73-75 (1972).
 - 14) Lichtenstein, L. M. : The immediate allergic response ; in vitro separation of antigen activation, decay and histamine release. *J. Immunol.*, **107** : 1122-1130 (1971).
 - 15) Lichtenstein, L. M. and DeBernardo, R. : The immediate allergic response ; in vitro action on cyclic AMP-active and other drug on the two stages of histamine release. *J. Immunol.*, **107** : 1131-1136 (1971).
 - 16) Rominger, K. L. et al. : Vergleichende Pharmakokinetik von Fenoterol-Hydrobromide bei Ratte, Hund und Mensch. *Arzneim.-Forsch.* **22** : 1190-1196 (1972).