抗炎症ステロイドによる白血球浸潤抑制作用の分子機構

小嶋文良・鶴藤 丞・栗原 篤*

—medical topics—

Molecular Mechanism of the Inhibitory Effect of Dexamethason (DXM) on Leukocyte Infiltration
Susumu Tsurufuji・Atsushi Kurihara・Fumiyoshi Ojima*

ステロイド性抗炎症薬の分子レベルでの作用機構として、特に解析の進んでいる血管透過性亢進抑制作用についての研究から、ステロイドが直接作用をあらわすのではなく、特異的な抗炎症蛋白の誘導が起り、その蛋白の働きを介してステロイドの作用が発現するという gene expression theory が提唱されている。今回はステロイド性抗炎症薬として、dexamethason (DXM) を用い、その白血球浸潤抑制作用にも、この gene expression theory があてはまるかについて、検討を行った。

白血球浸潤に関する実験モデルである carboxy methyl cellulose (CMC) 嚢法を改良し、ラットの背部の4カ所もしくは2カ所に、空気嚢をつくらず直接2%のCMC溶液を皮下に注入する。注入する量は、4 pouches method では1カ所につき1ml、2 pouches method は2mlとし、注入後6時間経過してからCMCを回収し、浸潤白血球数の算定を行う。局所作用を期待するため、薬物の投与量は濃度であらわした。この方法では、二元配置法による統計処理を行うことができるため、個体差を除き、薬物の効果のみを検討することができる。さらに2% CMCにchemoattractantであるカゼインを加えることにより、CMC単独にくらべ浸潤白血球数の増加がみられ、平均値に対するstandard errorの割合も小さくすることができた。

最初に2 pouches method を用いてDXMの用量反応関係について検討した。その結果、DXMは用量に依存して白血球の浸潤を抑制し、 6×10^{-7} Mではその作用は、投与したCMC嚢内にのみ発現した。そのため以後の実験では、局所にその作用の発現する 6×10^{-7} MのDXMを用いている。

DNA dependentのm-RNA合成阻害剤であるactinomycin D (AcD) は、それ自身に白血球浸潤を抑制する作用があることが検討の結果判明した。そのためDXMとの併用実験では、その作用の比較的弱い0.5 μ g/mlのAcDを用いた。CMC溶液を注入してから2時間後に、DXMとAcDを同時にCMC嚢内に投与すると、DXMによる白血球浸潤抑制作用に有意な回復が認められた。このことより、DXMによる白血球浸潤抑制作用の発現にも特異的なm-RNAの誘導が必要なことが考えられる。さらにCMCとDXMを同時に投与し、そ

の2時間後にAcDを投与して検討を行った。この場合、2時間後に同時に投与した前記の実験と同様に、AcDは4時間作用させているにもかかわらず、有意な回復は認められなかった。このことはDXMを投与してから、AcDを投与するまでの2時間の間にすでにm-RNAの誘導が起り、そのためにAcDがDXMの作用を抑制できなかったことによると考えられる。

以上の結果より、DXMによる白血球浸潤抑制作用の発現にもm-RNAの誘導が必要であり、gene expression theory が適用できる可能性が示唆された。

つぎに蛋白合成阻害剤を用いての検討を行った。しかし蛋白合成阻害剤として、今回用いたcycloheximideおよびpuromycinについて、白血球浸潤に対する影響を調べた結果、*in vitro*で十分にその阻害能を発揮する濃度では、両物質ともに強い白血球浸潤抑制作用が認められた。そのため、DXMとの併用実験を行うとしても、DXMの抑制作用の回復の有無を検討することは不可能である。二つの蛋白合成阻害剤の持つ白血球浸潤抑制作用については、*in vivo*でこのような検討を行った文献はみられず、*in vitro*においても、白血球の遊走に対して、抑制するという報告と、抑制しないという相反するデータがだされている。puromycinについては、高濃度においても抑制率の最大は50%程度であるのに対し、cycloheximideはもっと大きな抑制がみられる。このようなことより、cycloheximideおよびpuromycinによる白血球浸潤抑制作用は、蛋白合成阻害作用によるものではなく、別の作用によると考えられる。

さらに、*in vitro*で細胞の遊走能を定量化できるBoyden法を用い、多形核白血球の遊走能に対するDXMの作用を検討した。その結果、生体内では考えられないような高濃度のDXMを用いたときに、遊走の抑制が認められた。しかし、その抑制率はわずかなものであり、DXMの白血球浸潤抑制作用は、白血球に作用し、直接その遊走能を低下させるためのものではない、ということが判明した。ただし、これでステロイド性抗炎症薬の標的細胞として白血球が除かれたわけではなく、白血球自身のつくりだすchemotactic factorの産生段階についても検討する必要があると考えられる。

さらに今後の課題として、標的細胞の一つと考えられる血管内皮細胞についての検討、さらに、gene expression theoryの最初のステップであるreceptorとの結合段階についても、antiglucocorticoidを用いての検討を行う必要があると考えている。

* Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University 東北大学薬学部生化学教室