Ciprofloxacin による肥満細胞からのヒスタミン遊離に関する検討

JAPANESE JOURNAL OF INFLAMMATION
rapid communication

中川武正・嶋田基五郎・水島 裕^{*1)},
高石敏昭・森田 寛^{*2)}

Effect of ciprofloxacin on histamine release from human and rat mast cells

The effect of ciprofloxacin (CPFX), one of new-quinolones, on histamine release from human dispersed skin mast cells and rat peritoneal mast cells was evaluated *in vitro*. It was demonstrated that CPFX did not induce significant histamine release from the relevant cells with the concentrations below 20 $\mu\text{g/ml}$, indicating that CPFX itself does not activate mast cells directly as a non-immunological stimuli with the dosis employed clinically.

Rec. 3/27/1995, Acc. 5/4/1995, pp 337~338

Takemasa Nakagawa・Jingoro Shimada・
Yutaka Mizushima^{*1)}・Toshiaki Takaishi・
Yutaka Morita^{*2)}

key words : ciprofloxacin, histamine release, mast cell

ニューキノロン系薬剤によるアナフィラキシー(様)反応などの即時型過敏症状が報告されている¹⁾。その機序として、薬剤自体による直接的な肥満細胞活性化が関与するか否かを探る目的にて、ciprofloxacin (CPFX) のラット、およびヒト肥満細胞からのヒスタミン遊離能を検討した。

図1 シプロフロキサシンによる肥満細胞からのヒスタミン遊離

方法

ラット肥満細胞は、Sprague-Dawley 系雌性ラットの腹水より、腹腔浸出細胞として得た ($n = 3$)²⁾。ヒト肥満細胞は、健常成人 foreskin をチョッパーにて細片化し、さらに、1 mg/ml collagenase, 0.5 mg/ml hyaluronidase, 10 $\mu\text{g/ml}$ DNase 存在下に 37°C, 1 時間の処理を 2 回行い、100 μm Nitex cloth で濾過後、細胞遊離液とした ($n = 3$)³⁾。

CPFX (Bayer) は、使用直前に PIPES ACM (25 mM PIPES, 119 mM NaCl, 5 mM KCl, 0.1% human serum albumin, 2 mM Ca^{2+} , 0.5 mM Mg^{2+} , pH 7.4) にて、希釈系列 0.2, 2, 20, 200, 1,000 $\mu\text{g/ml}$ を作製し、pH を測定した。20 $\mu\text{g/ml}$ 以下では pH 7.41~7.44, 200 $\mu\text{g/ml}$ では 7.33~7.34, 1,000 $\mu\text{g/ml}$ では 6.84~6.86 であり、後 2 者については sodium bicarbonate にて pH 補正を行い、おののおの 7.37~7.38, 6.95~6.96 とした。

ヒスタミン遊離は肥満細胞を CPFX 希釈液中で 37°C, 30 分反応させ、最後に遠心分離して上清を採取し、上清中および全細胞中のヒスタミン量をアシル化ヒスタミンモノクローナル抗体を用いる radioimmunoassay⁴⁾ にて測定した。また、positive control として Ca ionophore A23187 0.5 $\mu\text{g/ml}$ を用いた。なお、測定はすべて duplicate で行い、ヒスタミン遊離率は次式により算出した。

$$\text{ヒスタミン遊離率} = \frac{(\text{刺激時ヒスタミン量} - \text{無刺激時ヒスタミン量})}{(\text{細胞内ヒスタミン量} - \text{無刺激時ヒスタミン量})} \times 100$$

^{*1)} Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター

^{*2)} Department of Internal Medicine and Physical Therapy, University of Tokyo 東京大学医学部物療内科学教室

Offprint requests to : Takemasa Nakagawa, Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine, 2-16-1 Sugao, Miyamae-ku, Kawasaki 216, Japan

結 果

結果を図1に示す。CPFX は $20\text{ }\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度ではラット腹腔肥満細胞、ヒト皮膚肥満細胞からのヒスタミン遊離を惹起しなかった。ラット肥満細胞では CPFX $200\text{ }\mu\text{g/ml}$ にて $35.4\pm 10.8\%$ (pH 補正後 $29.6\pm 9.3\%$)、 $1,000\text{ }\mu\text{g/ml}$ では $90.3\pm 10.1\%$ (pH 補正後 $81.9\pm 1.9\%$) の遊離を認めた。ヒト肥満細胞での最大遊離率は $1,000\text{ }\mu\text{g/ml}$ にて非補正群 $8.0\pm 6.6\%$ 、補正群 $15.6\pm 8.3\%$ であった。

考 察

本検討において、CPFX は $20\text{ }\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度では、ラットおよびヒト肥満細胞から薬物自身による非特異的なヒスタミン遊離を惹起しないことが明らかとなった。CPFX を単回あるいは13回連続して点滴静注したときの血漿中最高濃度はおおよそ $2.5\text{ }\mu\text{g/ml}$ である (Bayer 社社内資料) ので、上記の結果は CPFX 臨床用量ではヒスタミン遊離は惹起されないことを意味する。

しかし、 $200\text{ }\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度ではヒスタミン遊離が生じ、特にラット肥満細胞においてヒトのそれに比して作用が強かった。その機序は現時点では不明であるが、ラット肥満細胞については細胞毒性による可能性もあり、今後の検討課題である。

薬物アレルギーによって多彩な症状が出現するが、なかでも重篤で速やかな対応を必要とするのがアナフィラキシー (様) 反応である。その診断に

は皮内反応、試験管内 IgE 抗体測定、ヒスタミン遊離試験⁵⁾などが用いられている。本検討では CPFX による直接的なヒスタミン遊離は否定されたものの、IgE 抗体を介する機序に関しては不明であり、キノロン系薬剤にてショック症状を呈した症例の血清などを用いたさらなる検討が必要である。

なお、ヒスタミン測定には通常スペクトロフルオロメトリーが用いられるが、キノロンには測定系への干渉物質が含まれているため radioimmunoassay にて評価した。

文 献

- 1) Vieluf, D., Russwurm, R., Przybilla, B., Ring, J.: Anaphylactoid reactions to quinolones. *J. Allergy Clin. Immunol.* 87: 228, 1991 (abstract).
- 2) Nakagawa, T., Stadler, B.M., de Weck, A.L.: Determination of rat mast cells by flow-cytometry. *J. Immunol. Methods* 33: 87-92, 1980.
- 3) Lowman, M.A., Rees, P.H., Church, M.K.: Human mast cell heterogeneity: Histamine release from mast cells dispersed from skin, lung, adenoids, tonsils, and colon in response to IgE-dependent and nonimmunologic stimuli. *J. Allergy Clin. Immunol.* 81: 590-597, 1988.
- 4) Morel, A.M., Delaage, M.A.: Immunoanalysis of histamine through a novel chemical derivatization. *J. Allergy Clin. Immunol.* 82: 646-654, 1988.
- 5) Koller, D.Y., Rosen Kranz, A.R., Priker, C., Gotz, M., Jarisch, R.: Assessment of histamine release from basophils in whole blood by benzylpenicilloyl poly-L-lysine in penicillin-sensitized patients. *Allergy* 47: 459-462, 1992.