サラゾスルファピリジンおよびブシラミンのⅢ型およびⅣ型アレルギー反応に対する抑制効果

JAPANESE JOURNAL OF INFLAMMATION
rapid communication

小谷敬子・瀬戸口尋子・笹野 稔*

Effects of salazosulfapyridine and bucillamine on the active Arthus reaction and delayed-type hypersensitivity response

Effects of salazosulfapyridine (SASP) and bucillamine (Bc), as disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs), on an active Arthus reaction and a delayed-type hypersensitivity (DTH) response were studied. SASP and Bc significantly suppressed the active Arthus reaction and DTH response. SASP and Bc also increased some cytokines in the DTH mice serum, such as interferon (IFN)- γ , interleukin (IL)-4, and IL-10.

These results suggest that SASP and Bc activate all types of T cells, especially Th0 and Th2 involved in type IV (delayed-type) hypersensitivity, and also suppress type III hypersensitivity activated with immune complex.

Rec. 9/20/1996, Acc. 11/7/1996, pp 87~89

Noriko Odani・Chikako Setoguchi・
Minoru Sasano*

key words : salazosulfapyridine, bucillamine,
delayed-type hypersensitivity

慢性関節リウマチ (rheumatoid arthritis, RA) の病因は未だ不明な点が多いが、その発症機構には種々の免疫学的機序が働いていると考えられている。一つに、RA 滑膜において浸潤した T 細胞が未知の外来あるいは自己抗原を認識し、遅延型の炎症反応を起こしているといわれている¹⁾。また、液性免疫から RA の発症を考えると、リウマトイド因子やそれに結合した免疫複合体

(immune complex, IC) の組織への沈着によって組織破壊が起こるといわれている²⁾。これらのことから、RA の発症に IC により補体が活性化されて惹起されるⅢ型、および活性化された T 細胞が関与するⅣ型アレルギーが深く関わっているのは明らかである。そこで、本研究では抗リウマチ薬 (DMARDs) である salazosulfapyridine (sul-fasalazine : SASP, Sigma) (アザルフィジン®) と bucillamine (Bc, 参天製薬) (リマチル®) の効果について検討した。

方 法

(1) Ⅳ型アレルギー：ニワトリ卵白リゾチーム (EL) 誘発遅延型アレルギー (DTH)

リン酸緩衝食塩水に 10 mg/ml の濃度に溶解した EL (生化学工業) を等量の Freund 完全アジュバント (Difco) と混合してエマルジョンを作成し、その 0.1 ml ずつを C57BL/6 系雄性マウス (日本チャールスリバー) の背中皮膚 4 箇所 に皮内注射することで感作を行った。薬物投与は感作日を含めて 4 日間経口投与にて行った。最終投与 1 時間後、2 mg/ml の濃度に溶解した EL を 25 μ l ずつマウスの右足蹠皮下に惹起注射した。足の腫脹は惹起 24 時間後にシクネスゲージ (Mitutoyo) を用いて測定した。

(2) サイトカイン測定法

Ⅳ型アレルギーの足腫脹測定後 (惹起 24 時間後)、マウスより採血し、血清を分取した。血清中のサイトカイン量は Genzyme 社の ELISA キットを用いて測定した。

(3) Ⅲ型アレルギー：ヒツジ赤血球 (SRBC) 誘発 active Arthus 反応

5×10^8 個の SRBC (日本生物材料センター) を 0 日目および 14 日目に BALB/c 系雄性マウス (日本チャールスリバー) の尾静脈から注入して初回および 2 次感作を行った。薬物投与は 15 から 18 日目の 4 日間、経口投与で行い、19 日目にマウス右足蹠皮下に 2×10^8 個の SRBC を注射して反応を惹起した。足の腫脹は惹起 3 時間後にシクネスゲージを用いて測定した。

(4) 統計処理法

* Developmental Research Division, Santen Pharmaceutical Co., Ltd. 参天製薬株式会社開発研究本部
Offprint requests to : Minoru Sasano, Developmental Research Division, Santen Pharmaceutical Co., Ltd. 9-19, Shimoshinjo 3-chome Higashiyodogawa-ku Osaka 533, Japan

図1 Effect of SASP and Bc on delayed-type hypersensitivity response
These figure show the effect of SASP(A) and Bc(B) on the footpad swelling of the DTH mice. The concentration of IFN- γ (C), and IL-4(D) in the DTH mice serum were measured 24h after the challenge reaction by using the ELISA kit purchased from Genzyme. N means normal, and C means control.
Data are expressed as the mean $\pm$ S. E. M. *, ** Significantly different from the control at $p < 0.05$ and $p < 0.01$ respectively (Dunnett's multiple comparison).

図2 Effect of SASP and Bc on the active Arthus reaction

This figure shows the effect of SASP(A) and Bc(B) on the footpad swelling of the active Arthus mice. C means control. Data are expressed as the mean $\pm$ S. E. M. The value of control mice footpad swelling is significantly different from that of normal (Student's t-test). *, ** Significantly different from the control at $p < 0.05$ and $p < 0.01$ respectively (Dunnett's multiple comparison).

薬物非処置群と薬物処置群の比較は Dunnett's multiple comparison test を用いて検定を行った。

結果

図1に SASP および Bc の DTH に対する効果, および, 惹起 24 時間後の血清中のサイトカイン濃度を示した. SASP は 30 mg/kg 以上の用量で顕著に DTH を抑制し, 血清中の interferon- γ (IFN- γ) と interleukine-4(IL-4)量を用量依存的に増加させた. また, Bc も用量依存的に DTH を顕著に抑制し, 血清中の IFN- γ と IL-4 量を用量依存的に増加させた.

図2に SASP および Bc の active Arthus 反応に対する効果を示した. SASP と Bc は active Arthus 反応を抑制し, 特に Bc は用量依存的な抑制作用を示した.

考 察

IV型アレルギーは RA の関節破壊に関与していると考えられるが、今のところ、IV型アレルギーに対する DMARDs の効果については一定の見解が得られていない³⁾。すなわち、ある DMARD は抗原の種類によって抑制を示したり、まったく影響を与えなかったり、かえって増強作用を示すことがある。Bc と SASP はメチル化ヒト血清アルブミンを抗原とした DTHではまったく影響を与えなかったり、増強を示したが⁴⁾、EL を抗原とした本研究では顕著な抑制効果を示した。この抑制作用がどのT細胞サブセットに対する効果なのかを各種サイトカインを測定することで検討したところ、主に細胞性免疫を担当する Th1 細胞の産生する IFN- γ 、主に液性免疫を担当する Th2 細胞の産生する IL-4、および、データは示していないが、IL-10 の血清中濃度を上昇させた。

Th 細胞の分化の過程には、Th1, Th2 細胞に分化する前に Th0 細胞が存在し、Th0 細胞は IFN- γ , IL-4, IL-10 すべてを産生することがわかっている⁵⁾。また、DTH は本来 Th1 細胞優位のアレルギーモデルであるといわれている。したがって、Bc, SASP は、Th0 および Th2 細胞を活性化して IFN- γ , IL-4, IL-10 量を増加させ、結果的にT細胞サブセットを Th2 細胞優位に傾け、DTH を抑制している可能性が考えられる⁶⁾。

一方、Bc は他の実験系(逆受身アルサス反応)

においてIII型アレルギーを抑制することがすでに報告されている⁷⁾。今回さらに active Arthus 反応を行った結果、Bc, SASP とともに抑制効果を示した。したがって、Bc のみならず SASP も IC を介する免疫反応に対して抑制作用を有するものと考えられる。

以上、今まで不明な点の多かった Bc, SASP の抗リウマチ作用機序の一つとしてIII型IV型アレルギーに対する抑制効果を見出した。

文 献

- 1) 松山隆美：RA におけるT細胞とシグナル伝達異常。医学のあゆみ 161：562-566, 1992.
- 2) 廣瀬俊一：免疫異常—液性免疫の面から。最新医学 44：1792-1796, 1989.
- 3) 斎藤輝信：疾患修飾性リウマチ剤(DMARDs)。Prog. Med. 14：49-56, 1994.
- 4) 小坂志朗, 村松 実：新しい抗リウマチ剤アクタリット(MS-932)の薬理作用。Prog. Med. 14：255-261, 1994.
- 5) Powrie F, Coffman RL：Cytokine regulation of T-cell function：potential for therapeutic intervention. Immunology Today 14(6)：270-274, 1993.
- 6) 石田 博, 大田博之, 柳田英寿, 鏑田利恵子：Th2 サイトカインによる細胞性免疫の制御。臨床免疫 28(6)：675-683, 1996.
- 7) Nakata K, Suda H, Yamauchi H, Iso T：Pharmacological Studies of N-(2-Mercapto-2-Methylpropanoyl)-L-Cysteine(SA96)(3)Effects of SA96 on Experimental Allergic Reactions. Japan. J. Pharmacol. 37：85-90, 1985.