アレルギー性空気嚢炎症

大内和雄・渡辺雅子・吉村ゆかり・平沢典保・吉野 伸・鶴藤 丞*

Allergic air-pouch inflammation in rats

Kazuo Oh-uchi・Masako Watanabe・Yukari Yoshimura・
Noriyasu Hirasawa・Shin Yoshino・Susumu Tsurufuji*

ヒトの関節リウマチ疾患などのように、アレルギー反応の関与が強く示唆されている炎症病態の解析を目的として、アレルギー反応を原因とする炎症の病態モデル開発を試み、ラットのアレルギー性空気嚢炎症モデルを確立した。本モデルを活用することにより、アレルギー炎症発現におけるアラキドン酸代謝産物の関与の重要性について検討を加えたので、報告する。

方 法

(1) アレルギー性空気嚢炎症モデル作製法

azobenzenearsonate acetyl bovine serum albumin (ABA-AcBSA) 5 mg を FCA とともに体重 140~170g の Sprague-Dawley 系雄ラット (SPF) に皮下注射することにより感作し、9日目に背部皮下に空気 8 ml を注入して卵型の空気嚢を作製する。空気嚢を前もって作製しておくことは、アレルギー性炎症を十分に誘発させるための space をつくっておく意味で重要である。感作後10日目に、抗原 ABA-AcBSA 2 mg を含む 2% sodium carboxymethyl cellulose (CMC-Na) 溶液 4 ml を空気嚢内に注入して、アレルギー反応を惹起させる。

(2) 血管透過性測定法

アレルギー反応惹起後、経時的に¹³¹I 標識ヒト血清アルブミン (¹³¹I-HSA) 1μCi を股静脈より注射し、30分後に頸動脈切断により脱血死させ、空気嚢内の全滲出液を採取する。一定量の滲出液中の¹³¹I-HSA の放射能を測定することにより全滲出液中の放射能を求め、注射量の何%が滲出液中に漏れてたか計算し、この値を血管透過性の指標とする。

(3) prostaglandin (PG)E₂ 測定法

滲出液から Jaffe の方法により酸性脂質を抽出し、抗 PGE₂ 抗体を用い第二抗体法により測定した。

(4) slow reacting substance (SRS) 測定法

滲出液より Orange らの方法および Murphy らの方法に準じて抽出分画を行い、モルモットの摘出回腸を用いて superfusion 法により測定を行った。

結果と考察

無感作ラットの空気嚢内に抗原液を注入すると、血管透過性亢進反応は弱く、そのピークは抗原液注入後4時間で約0.7%である。滲出液中の PGE₂ レベルもきわめて低く、抗原液注入後4時間で最高となり、約4ng/ml であった。このように、血管透過性が亢進する時期と滲出液中の PGE₂ レベルが高くなる 時期とが一致するのは、カラゲニン空気嚢炎症の場合と同様であった。

一方、感作ラットの場合では図1に示すように、抗原液注入後1時間までに強い血管透過性亢進が起こり、その後15時間にかけて減少し、以後再び軽く亢進するパターンを示した。ところが滲出液中の PGE₂ レベルは、アレルギー反応惹起後8時間にかけて上昇し、15時間でやや低下し24時間にかけて再び上昇するパターンを示した。

このことより、アレルギー反応惹起後8時間以降では、血管透過性と滲出液中の PGE₂ レベルの間に相関関係があり、したがって、アレルギー反応惹起後8時間以降では、PGE₂ が血管透過性亢進に関与していると考えられる。しかしながらアレルギー反応惹起後8時間以前では、血管透過性変化と滲出液中の PGE₂ レベルの変化は連動せず、したがって PGE₂ 以外の因子が関与していることが示唆された。

そこで、アレルギー炎症滲出液中の histamine 含量について、モルモットの摘出回腸を用いた bioassay 法により測定すると、アレルギー反応惹起後1時間ですでに高いレベル (9 μg/ml) に達し、その後8時間にかけて緩やかに減少するパターンを示した。したがって、アレルギー反応惹起直後のいちじるしい血管透過性亢進に対して histamine, serotonin が関与している可能性が示唆されたため抗 histamine, 抗 serotonin 剤である cyproheptadine の効果を検討した。

cyproheptadine はアレルギー反応惹起の1時間前に経口投与し、アレルギー反応惹起後30分から1時間まで

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

図1 血管透過性と PGE₂ レベルの経時変化

の血管透過性を測定した。その結果、5mg/kg の cyproheptadine 投与によっても血管透過性は半分程度にしか抑制されなかった。このことより、アレルギー反応惹起直後の血管透過性亢進に対して、histamine, serotonin が関与しているものの、それ以外の因子も関与していることが示唆された。

アラキドン酸の lipxygenase product である leukotriene (LT) C₄ あるいは D₄ は、それ自身でラットにおいて血管透過性を亢進させる作用があり、その作用は PGE₂ が存在するといちじるしく増強されることが判明している。そこで、アレルギー炎症滲出液中に、LTC₄ あるいは D₄ が存在するかどうか検討した。アレルギー反応惹起後 1, 8, 24 時間の炎症滲出液から SRS fraction を部分精製し、モルモット回腸収縮活性を調べたところ、図 2 に示す結果が得られた。

惹起後 1 時間ではサンプル注入直後の強い収縮活性がみられるが、惹起後 24 時間では注入直後の収縮活性は低下し、その後に遅れて収縮させる活性が強くなる。はじめの収縮活性は、SRS の特異的拮抗剤である FPL 55712 (0.01 μg/ml) によって部分的に阻害される (図 2 右)

図2 モルモット摘出回腸の収縮パターン

ことから、LTC₄ and/or D₄ による収縮であると考えられる。遅れて収縮させる活性は FPL 55712 によって block されないことから、LTC₄ and/or D₄ とは別の物質による収縮であると考えられる。

以上のように、アレルギー反応惹起後 1 時間目の滲出液中には、LTC₄ and/or D₄ によるものと思われる強い収縮活性が存在することから、アレルギー反応惹起後 1 時間にみられる強い血管透過性亢進には、アラキドン酸の lipxygenase products である LTC₄ and/or D₄ が関与していることが強く示唆された。

cyclooxygenase 阻害剤である indomethacin をアレルギー反応惹起と同時に局所投与すると、惹起後 24 時間で血管透過性および白血球浸潤が有意に抑制されること、および phospholipase A₂ 阻害作用のあるステロイド抗炎症薬 dexamethasone も、indomethacin 以上に強力に抗アレルギー炎症作用を発現することが判明している¹⁾。今後、アレルギー炎症発現における anaphylaxis 反応、Arthus 反応、delayed type 反応のいかなる過程で、いかなるアラキドン酸代謝産物が重要な役割を果たしているのか、さらに明確にする必要がある。

文 献

- 1) Ohuchi, K., Yoshino, S., Kanaoka, K., Tsurufuji, S.: Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 68: 326, 1982.