aminomethyl cyclohexane carboxylic acid 誘導体 (AMA-60) によるアジュバント関節ならびにその他の炎症反応および免疫反応に対する基礎的研究

汐見 徹・村島登志江・長 紹元*, 野田三九雄・田路真理・滝田 仁・小林秀年**

Suppression of adjuvant arthritis and other inflammatory lesion by aminomethyl cyclohexane carboxylic acid derivative (AMA-60). Fundamental study on it's antiinflammatory and immunomodulative effect

Toru Shiomi・Toshie Murashima・Shogen Cho*, Sakuo Noda・Mari Taji・Hitoshi Takita・Hidetoshi Kobayashi**

aminomethyl cyclohexane carboxylic acid 誘導体(以下 AMA-60 と略す)は最近われわれの手によって合成された化合物で trans-4-[N-(3',4'-dihydroxybenzylidene) aminomethyl] cyclohexane-1-carboxylic acid の構造をもつ分子量 277 の黄白色の粉末である。われわれは AMA-60 のアジュバント関節炎, MRL/l マウス関節炎ならびに種々の炎症のパラメーターや抗体産生能などに及ぼす影響について検討したので報告する。

方 法

Lewis ラット雄性週齢10週のものに BCG アジュバントを尾部に 0.6mg/rat 注射し AMA-60 を 100mg/kg 経口投与して関節炎の発生状況, 組織像, X線像, ツベルクリン反応局所における ^3H -thymidine の取り込み¹⁾, 白血球数および補体価の推移²⁾, 結核菌抽出抗原に対する抗体産生などを調べた。さらに AMA-60 の作用機序を調べるためにラットに AMA-60 を 100mg/kg 投与し BSA (2 mg/rat), SRBC (5×10^8 /rat), ferritin (2 mg/rat) および PVP (1 μg /rat) 投与に対する抗体産生能力および ferritin-抗 ferritin complex 投与による炎症局所の多核白血球遊走阻止, セルロースパウダーを用いた肉芽形成阻止, PCA 反応などを調べた。また MRL/l マウス雄性 5 週齢に AMA-60 100mg/kg を投与し関節炎, リウマトイド因子, 抗核抗体の出現を調べた。さらに *in vitro* において PHA (15 $\mu\text{g}/\text{ml}$) による BALB/c マウス脾細胞の幼若化反応に対する AMA-60 の影響を調べた。

* Department of Orthopaedic Surgery, Teikyo University School of Medicine 帝京大学医学部整形外科学教室

** Kureha Chemical Industry Co., Tokyo Research Laboratory 呉羽化学(株)東京研究所

図1 change of hind paw volume of arthritis induced rats

結 果

AMA-60 のアジュバント関節炎に対する作用については臨床的にも, X線の, 病理的にも抑制がみられた。足の腫脹は足の容積で測定した。図1のとおり AMA-60 投与群では有意に抑制を示した。X線的にはアジュバント注射60日目の positive control の足では足根骨の肥厚と変形を認めたが AMA-60 投与ラットのものはほぼ正常であった。アジュバント注射41日目の組織像では関節周囲に慢性炎症像を示したが組織像では炎症はきわめて軽微であった。末梢血の白血球数の変動は AMA-60 投与群と非投与群とでは特に差は認めなかった。つぎに AMA-60 の抗体産生に対する作用についてはまずアジュバント関節炎発生過程における結核菌抽出抗原に対する抗体産生は AMA-60 投与による有意の差は認めなかった。同様に胸腺依存性の BSA, SRBC に対する抗体産生も差は認めなかった。また胸腺非依存性である ferritin, PVP に対する抗体産生も有意の差を認めなかった。補体価の推移もアジュバント関節炎発生過程において AMA-60 投与により有意の変動は認めなかった。しかし

表1 up-take of ^3H -thymidine at the site of tuberculin reaction

	number of rats	Δ dpm (right-left)	%inhibition of Δ dpm
blank (non treated)	9	7676 $\pm$ 1078	—
control (Adj. only)	11	54828 $\pm$ 2608	—
AMA-60+Adj. (100mg/kg/day p.o.)	10	37839 $\pm$ 2439*	36.0

$$\% \text{ inhibition of } \Delta \text{ dpm} : \frac{\text{control} - \text{group}}{\text{control} - \text{blank}} \times 100$$

* $P < 0.005$ from control

表3 effect of AMA-60 on the spontaneous arthritis of MRL/l mice

	AMA (+)	AMA (-)
incidence of arthritis (+)	3	8
($\pm$)	2	0
(-)	5	2
mean arthritis score	1 $\pm$ 0.3	2 $\pm$ 0.28*
rheumatoid factor (+)	2	7**
(-)	6	1

* $P < 0.05$, ** $P < 0.05$

ラットの ツベルクリン反応局所における ^3H -thymidine の取り込みは表1のとおりで、AMA-60投与によって有意に抑制された。

in vivo での炎症の局所における多核白血球の遊走に対しては ferritin-抗 ferritin complex をラットの胸腔内に注入した場合、表2のように AMA-60 は多核白血球の遊走を有意に抑制した。

PCA 反応は補体の関与しないアナフィラキシー反応であるが AMA-60 による影響は認めなかった。肉芽形成抑制試験はセルロースパウダーを生食にて懸濁し脱水後ラットの背中に注入し14日後に肉芽の重量およびその組織像を調べた。AMA-60 100mg/rat 投与により肉芽重量は有意に抑制された。組織像においても fibrosis、白血球浸潤ともに AMA-60 投与群が軽度であった。自己免疫疾患モデルの MRL/l マウスに対しても AMA-60 100mg/rat 投与群は表3のように関節炎およびリウマトイド因子、抗核抗体の出現を抑制した。また *in vitro* において PHA による BALB/c マウス脾細胞の幼若化反応に対して AMA-60 は抑制した。

表2 migration of WBC at the site of inflammation (*in vivo*)

	WBC count (/ml)	%inhibition of migration*
control	8.3 $\times$ 10 ⁶ $\pm$ 0.75	—
AMA-60	6.1 $\times$ 10 ⁶ $\pm$ 0.90**	26.9

$$* \% \text{ inhibition of migration} : \frac{\text{control} - \text{AMA-60}}{\text{control}} \times 100$$

** $P < 0.001$, $N=6$

表4 main biological activity of AMA-60

item	effect
platelet aggregation	inhibition
PMN chemotaxis	inhibition
serum complement level	no effect
antibody production;	
thymus dependent	no effect
thymus independent	no effect
auto-antibody in experimental animal (RF, ANF)	inhibition
acute edema;	
immune complex	inhibitory
carrageenin	no effect
granuloma formation	inhibition
effect on animal model of disease	
MRL/1 disease;	
nephritis, arthritis	inhibition
adjuvant arthritis	inhibition
mitogenesis (PHA)	inhibition

考察と結語

AMA-60の作用は総括すると表4のごとくで、実験動物ではアジュバント関節炎、MRL/l マウスの関節炎等を抑制した。補体価や抗原投与による抗体産生には影響はなかったが、マウスリウマトイド因子や抗核抗体などの自己抗体を抑制し、肉芽形成や炎症局所の白血球遊走、ツベルクリン反応局所の ^3H -thymidine の取り込みなどを抑えた。これらの所見を総合すると、AMA-60には白血球の遊走やリンパ球の幼若化を抑制する作用があり、その結果細胞性免疫反応をはじめ白血球浸潤を伴う炎症反応が抑制されるものと考えられる。

文 献

- 1) Bramm, E., Binderup, L., Arrigoni-Martelli, E.: Acta Pharmacol. et toxicol 44:75-80, 1979.
- 2) 岡田秀親: 臨床免疫 5: 955, 1973.