炎症反応に関与する炎症性メディエーターの消長と意義

大石 幸子†

北里大学薬学部薬理学教室, 〒108-8641 港区白金 5-9-1

Evaluation of Time Course and Inter-Relationship of Inflammatory Mediators in Experimental Inflammatory Reaction

Sachiko OH-ISHI

Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Kitasato University,
5-9-1 Shirokane, Minato-ku, Tokyo 108-8641, Japan

(Received January 24, 2000)

Inflammatory signs, such as heat, redness, swelling and pain, have been described from the Greek era. In these phenomena various endogenous active substances, *i.e.*, inflammatory mediators, could cause and manifest vascular dilatation, a vascular permeability increase and sensitization of pain receptors, *etc.* In order to evaluate the roles of inflammatory mediators, we have studied the time courses of inflammatory reaction along with detection of various active substances directly or indirectly in the experimental animal model of pleurisy, such as rat carrageenin-induced, and zymosan-induced pleurisy. These pleurisies showed almost similar time courses of pleural exudate accumulation and neutrophil migration. However, mediators detected in the exudates of such pleurisies were different; in carrageenin-induced pleurisy bradykinin and prostacyclin (PGI₂) caused exudate formation, while zymosan-induced pleurisy showed early degradation of mast cells and activation of complements, followed by an increase in platelet activating factor (PAF). In both pleurisies TNF α , IL-1, IL-6 and CINC (cytokine-induced neutrophil chemoattractant) appeared similarly in the exudates to cause chemoattractant for neutrophils. TNF α and IL-1 could stimulate to produce IL-6 and IL-8. While prostaglandins may regulate cytokine production *via* a cellular cAMP-dependent mechanism. Thus one should consider the time for application of anti-inflammatory drugs, such as cyclooxygenase inhibitor, indomethacin, since it causes increases in TNF α and IL-1 production by reducing PGI₂ and prostaglandin E₂ (PGE₂) levels. In conclusion, inflammatory reaction has its own automatic regulation mechanism through complex cross talks between inflammatory mediators.

Key words—inflammatory reaction; kallikrein-kinin system; prostaglandin; pleurisy; paw edema

1. はじめに

炎症 (inflammation) は、歴史的にも古くから記載、研究されてきた課題の1つである。ギリシャ語では *πηλογοσσι* (phlogosis) とされ、いずれも“燃えるような”という意味の語で現されるように、炎症のおきた局所が燃えるような痛み (pain), 熱感 (heat), 発赤 (redness), 腫脹 (swelling) を示すことから、炎症の4徴候として既にギリシャ時代に Celsus (30 B. C.~) によって記載されてきた。後に、これらの現象によって、局所の機能喪失を生じることから Galen が“機能喪失 (loss of function)”を加えて、5大徴候として知られるようになった (Fig. 1).¹⁾

これらの現象には生体内で産生される活性物質が関係していることが推測され、19世紀の終わり頃から病理学者を中心に科学的な検討がなされはじめ

た。20世紀初頭には、生理学者、薬理学者による活性物質の検索が行われはじめ、摘出臓器を用いた bioassay 法などの生理活性を実験的に調べる方法も研究されるようになり、次々に、活性物質が発見された。²⁾ この流れは現在でも、方法論には格段の進

Five signs of Inflammation

Heat (calor) ----- vascular dilatation
Redness (rubor) ----- vascular dilatation
Swelling (tumor) ----- vascular permeability increase
Pain (dolor) ----- sensitization of pain receptor
Loss of function (functio laesa)

Fig. 1. The History of Inflammation

本総説は、平成 11 年度日本薬学会学術貢献賞の受賞を記念して記述したものである。

† Present address: The Kitasato Institute, 5-9-1 Shirokane, Minato-ku, Tokyo 108-8641, Japan

Table 1. Relative Biological Activities of Bradykinin Analogs (Bradykinin = 100)

	Rat uterus	Rabbit j. vein	Guinea-pig vasc. perm.	Rat b. p.	Lung inact. ^{a)}
Bradykinin	100	100	100	100	98
Lys-BK	50	150	100	200	95
Met-Lys-BK	25	0.06	500	35	82
des-Arg ⁹ -BK	1	0.01	0.1	0.5	0
des-Arg ¹ -BK	<0.01	<0.01	0.3	10 ⁻⁴	65

a) Lung inact.: inactivation by lung circulation (%).

Table 2. Several Assay Methods for Some Inflammatory Mediators

	Bioassay	Immunological methods	Others
Histamine	Guinea pig ileum		
Bradykinin	Guinea pig ileum Rat uterus	EIA (β -galactosidase label)	Metabolites (EIA) HPLC
PGI ₂	Rat stomach strip Rat colon	EIA (as 6-kPGF1 α)	HPLC (ADAM*) (as 6-kPGF1 α)
PGE ₂	Rat stomach strip Rat colon	EIA	HPLC (ADAM)
PGD ₂	Rat stomach strip Rat colon	EIA	HPLC (ADAM)
Thromboxane A ₂	Rat stomach strip Rat colon Rabbit platelets	EIA (as TXB ₂)	HPLC (ADAM) (as TXB ₂)
LTC ₄ , LTD ₄	Guin pig ileum	EIA	HPLC (ADAM)
Platelet-activating factor (PAF)	Rabbit platelets		HPLC
TNF α	Cytotoxic assay (L929 cells)	EIA	
IL-1	[³ H]-Thymidine uptake (thymocytes)	EIA	
IL-6	IL-6-dependent hybridoma cells	EIA	
Cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC)		EIA	

ADAM: anthrly diazomethene

歩がなされているが、脈々と続けられている。

炎症反応は生体の反応であるため、この研究には“生きているまるごとの動物”での検討が必須である。また炎症は「生体が侵害刺激に対応して反応する過程である—Evert R. H. and Grant L.³⁾」ため、時間の因子すなわち時間経過を考慮する必要がある。そこで、著者らは炎症反応を調べるために、動物モデルを開発し、またその際に産生される活性物質の定量法、同定法を開発し、研究を進めた。炎症時に産生される生体内活性物質は、いわゆるオータコイ

ドに属するものが多い。オータコイドとは *autotokoids* “自分自身で作る自分に働く物質”といった意味であり、ヒスタミン、セロトニン、キニン、プロスタグランジン (PG) などが含まれる。以下にこれらの中から例をあげてその測定法や炎症時の産生機序などにふれてみることにする。

2. 代表的な活性物質とそれらの同定、測定法

2-1. カリクレイン・キニン系 カリクレイン・キニン系の産生活性物質は Table 1 に示す9つのアミノ酸よりなる活性ペプチドのブラジキニンで

ある。ブラジキニンの生物活性はこの表に示すように、オータコイドのヒスタミンやセロトニンとよく似た反応で、モルモットの血管透過性亢進、ラットの血圧下降等の他にバイオアッセイに用いられてきた各種平滑筋の収縮等がある。これらのペプチドは肺を1回通過すると90%以上失活してしまう。非常に短命であり、循環血液中では半減期が15秒であるという。⁴⁾ ブラジキニンの定量には、古典的な薬理学的な手法が用いられ、1970年代にはモルモット回腸、ラット子宮の収縮を標準品のブラジキニンと比較した平行線検定法が用いられてきた。⁴⁾ これらの方法はヒスタミン、セロトニン、アセチルコリンなどの活性物質との区別、特異性の検討が必要であった。特異的な拮抗薬もなかったため、キモトリプシンと処理したときに活性が消失すれば、ブラジキニンであると判断された。この方法ではかなり熟練を必要とするため、より簡便な方法が求められた。そこで、著者らはブラジキニンに対する抗体を作成し、 β -ガラクトシダーゼで標識したブラジキニンをを用いた酵素免疫測定法を開発した。⁵⁾ 現在ではブラジキニン測定のためにキットとして市販され、繁用されている (Table 2)。⁶⁾ カリクレイン・キニン系の酵素カリクレインには腺性カリクレインと血漿カリクレインの2つがあり、基質も異なる。Fig. 2 [A] に示すように、血漿カリクレインは血中では不活性のプレカリクレインとして存在し、血漿が陰電荷を帯びた表面に触れることによって活性化されたXII因子の活性化を介して活性化され、血漿カリクレイン (分子量約80 K) となる。基質は肝臓で産生され血中に分泌される血漿蛋白の1つである高分子キヌゲン (分子量約100 K) でブラジキニンが産生される。一方腺性カリクレインは Fig. 2 [B] に示すように腎臓や膵臓、唾液腺等から分泌される酵素 (分子量約40 K) で、血中の低分子キヌゲン (約60 K) を基質としてヒト、ウシ、ブタの場合はカリジンを、ラットの場合はブラジキニンを生成する。カリジンはブラジキニンのアミノ端にリジンを含むペプチドで、ブラジキニンとほぼ同様の活性を示す。詳細は文献⁴⁾ に述べた。血漿カリクレイン、腺性カリクレインの活性測定法は比較的選択的な、合成基質を用いて、さらに、特異的なインヒビターを

用いて、定量、同定することができる。キヌゲンについては、間接的方法として、ブラジキニン、カリジン等のキニンを生産させて、キニンの免疫測定法によるか、バイオアッセイを行う。著者らはモノクローナル抗体を作成し、直接的に高分子、低分子キヌゲンの放射免疫測定を開発した。⁷⁾ またこれらのプレカリクレイン、キヌゲン、XII因子などは、ヒトの場合には、先天性欠損症が見いだされており、これらの血漿が市販されているので、凝固時間によって、定量することも可能である。

近年、ブラジキニンのC端のア르기ニンの切断された $\text{desArg}^9\text{-bradykinin}$ ($\text{des-Arg}^9\text{-BK}$) が摘出ウサギ大動脈を収縮することが見いだされ、ブラジキニンの受容体として、従来のブラジキニンの活性に関係した、Table 1 に示すような反応を示す受容体は、キニン B2 受容体として、また $\text{des-Arg}^9\text{-BK}$ が反応する受容体はキニン B1 受容体として提唱された。⁸⁾ ごく最近これらの受容体がクローニングされて配列も報告されている。⁹⁾

2-2. 炎症のメディエーターの定量法の検討

色々な炎症のメディエーターの定量同定法として、私共が用いている方法を Table 2 にまとめた。ヒスタミンの測定法は古典的なモルモット回腸の収縮と抗ヒスタミン薬による特異的抑制でバイオアッセイで行われた他に、従来化学的方法として蛍光物質に誘導する方法が用いられた¹⁰⁾ が、最近では HPLC が用いられるようである。

アラキドン酸代謝物はよく知られているように、各種プロスタグランジンとロイコトリエン類、hydroxyeicosatetraenoic acid (HETE) 類があり、これらの測定法は、抗体が作成されるようになって、開発が進められた。放射免疫測定法は高価なことと特異性の問題、サンプルの前処理、精製が必要なことなど問題も多かった。著者らは前処理法の検討を行い、また高速液体クロマトグラフィーを用いた一斉分析測定法を開発した。¹¹⁻¹³⁾ この方法を用いてプロスタグランジン類を測定した例を Fig. 3 と Table 3 に示す。生体サンプルの場合には精製が必要であり、詳細は文献¹¹⁾ に記述されている。市販の EIA キットを用いた定量においても同様に、血漿蛋白などを含む場合には精製が必要である。

Fig. 2. Plasma and Glandular Kallikrein-Kinin Systems

Fig. 3. Typical Chromatograms of ADAM Derivatives of Authentic Arachidonate Metabolites

A (Fr-1) and B (Fr-2): Authentic arachidonate metabolites and AA were derivatized with ADAM and then fractionated through SEP-PAK silica into Fr-1 and Fr-2. The two fractions were injected separately into an HPLC apparatus equipped with an ODS-column (YMC A303 ODS, 4.6×250 mm, 5 μ m, YMC Co., Ltd., Kyoto). As mobile phases for Fr-1 (HETE's and AA), two stepwise solvent systems, *i.e.*, CH₃CN/H₂O/H₃PO₄ (85/15/0.1) and CH₃CN/H₂O/H₃PO₄ (95/5/0.1), were used at 30°C at the flow rate of 1.0 ml/min (A). The mobile phase for Fr-2 (PG's, TXB₂, and LTB₄) was the solvent of CH₃CN/H₂O/H₃PO₄ (70/30/0.1) at 30°C at the flow rate of 1.0 ml/min (B). Fluorescence intensity of the eluate was monitored at 412 nm with excitation at 365 nm. ADAM derivatives of the following amounts of authentic AA metabolites were injected: 10 ng of HETE's and AA, 5 ng of PG's and TXB₂, and 10 ng of LTB₄.

Table 3. Effect of AA861 on the Release of 5-Lipoxygenase Metabolites and Arachidonic Acid from Rat Peritoneal Leukocytes When Stimulated with A23187

Treatment	LTB ₄	5-HETE	AA
A23187 alone	211.8±11.6	360.2±10.9	19.5±2.6
A23187+AA861 (0.1 μ M)	87.6± 5.8 ^{*)}	197.5±10.9*	22.9±1.3
A23187+AA861 (1.0 μ M)	<1 ^{b)}	27.3± 2.6*	46.9±2.1*
Control	<1	<1	<1

Rat peritoneal leukocytes (4×10^7 cells) were stimulated with A23187 (12.5 μ M) for 10 min, and 5-lipoxygenase metabolites and arachidonic acid (AA) in the incubation medium were assayed by the ADAM-method as described in the text. Values are means±S.E. from 4 samples. ^{*)} indicates that the value is statistically different from that of A23187 alone at $p < 0.05$. ^{b)} <1: below the detection limit.

血小板活性化因子 (platelet-activating factor, PAF) はエーテル型リン脂質の1つで、強い血小板凝集作用を持つが、よい測定法がなく、ウサギ血小板凝集を用いたバイオアッセイが感度・特異性ともによいようである。ただし、生体サンプルの前処理としてSEP-PAKやHPLCを用いた分画が必要である。¹⁴⁾

サイトカイン類、特に炎症渗出液中に検出され、白血球遊走に関係するサイトカイン類の測定法も表中に示した。詳細は、文献¹⁵⁾に記載されている。

3. 炎症モデルにおけるメディエーターの産生経過

以上に示した方法を用いて、また拮抗薬や阻害薬を用いた検討を加えて、実験的炎症モデルであるラット胸膜炎におけるメディエーターの出現の時間経過とメディエーターの産生経過を調べた。

3-1. ラット・カラゲニン胸膜炎及びザイモサン胸膜炎の時間経過

ラット・カラゲニン胸膜炎の惹起には、2% カラゲニンの生理食塩溶液 (0.1 ml) を、またザイモサン胸膜炎では2% ザイモサンの生理食塩水懸濁液 (0.1 ml) を、7—8 週齢のSD系雄性ラット右胸腔内にエーテル麻酔下に投与した。一定時間経過後エーテル麻酔下に、採血、脱血致死させ、胸腔内渗出液の貯留量、渗出液中の白血球数、分類をカウントした。Fig. 4 に、ラット・カラゲニン胸膜炎、Fig. 5 にザイモサン胸膜炎の結果を示す。それぞれ上段には渗出液貯留量と好中球浸潤を、下段には渗出液中のサイトカイン類の定量結果の時間経過を24時間まで示した。カラゲニン胸膜炎では渗出液の貯留は20時間後のピークまで徐々に増加し、好中球の浸潤も20時間をピークに増加した。以後渗出液量はゆっくりと減少し、好中球に替わってマ

RAT CARRAGEENIN PLEURISY

Fig. 4. Time Courses of Carrageenin-Induced Pleurisy of Rats with the Appearance of Various Mediators and Cytokines

RAT ZYMOSAN PLEURISY

Fig. 5. Time Courses of Zymosan-Induced Pleurisy of Rats with the Appearance of Various Mediators and Cytokines

クロファージ系の単球が増加した。ザイモサン胸膜炎では、好中球は16時間をピークに、滲出液は24時間まで上昇を示していたが、貯留液量はカラゲニンの場合と同様に約3 mlとなった。これらの胸膜炎の初期の経過におけるメディエーターを上述の測定法や以下に示す薬理学的方法によって検討し、出

Fig. 6. Rat Pleurisy Induced by Intratracheal Injection of Carrageenin or Phorbol Myristate Acetate (PMA)

Exudate volume (ml); exudation rate, which was assessed by dye exudation for 20 min; and leukocyte number in the exudate were examined in Sprague-Dawley (SD), B/N-Kitasato (Ki) and B/N-Katholiek (Ka) rats. Data of the carrageenin-induced pleurisy were from rats sacrificed 3 h after the carrageenin injection, and data of the PMA-induced pleurisy were from rats sacrificed 0.5 h after the PMA injection.

現の時間帯を調べまとめた結果を最上段に示した。

3-2. カラゲニン胸膜炎におけるカリクレイン・キニン系の関与 カリクレイン・キニン系の活性化はSD系ラットのカラゲニン胸膜炎の各時間における胸腔滲出液中の血漿カリクレイン活性、キニノゲンの消費によって推定されたが、決定的な結果は1982年に導入された先天的なキニノゲン欠損ラット (Brown Norway Katholiek rat, B/N-Ka) を用いて明らかとなった。¹⁶⁾ Fig. 6にSDラット、B/N-Kaラット及びB/Nストレインの正常ラット (B/N-Kitasato, B/N-Ki) のそれぞれにカラゲニン胸膜炎を惹起した時の滲出液の貯留、滲出速度、白血球数を比較して示した。カラゲニン胸膜炎の3時間ではキニンの関与が指摘されていたが、明らかに、キニノゲン欠損のB/N-Kaでは滲出液貯留、滲出速度が、正常のB/N-KiやSDラットに比べて有意に低いことが示された。¹⁷⁾ 一方ヒスタミンとPAFの関与がわかっているホルボルエステル (PMA) の胸膜炎やザイモサン胸膜炎では差が認められなかった。以上からカラゲニン胸膜炎の初期にはブラジキニンの産生が炎症反応の特に滲出液貯留に寄与しているが白血球浸潤には直接関与しないことが明らかとなった。¹⁸⁾

3-3. カラゲニン胸膜炎におけるキニンとアラキドン酸代謝物の相互作用 さらにカラゲニン胸膜炎の初期にはキニンの産生を介してアラキドン酸代謝物の産生が刺激されていること、しかもキニノゲン欠損ラットの胸腔内ではプロスタグランジンの産生も低いことがわかった。²⁰⁾ すなわち Fig. 7に示すように、カラゲニン胸膜炎の1時間ではまだ滲出液の貯留がごく僅かで、ほとんど検出できないが、キ

Fig. 7. Effect of Captopril on the Carrageenin-Induced Pleurisy at 1 h in B/N-Kitasato (Ki) and B/N-Katholiek (Ka) Rats

Captopril (Ca) was injected intravenously at the dose of 10 mg/kg, 30 min before the carrageenin injection. Column C shows data from rats that did not receive captopril. Figures by the columns in panel (A) represent the numbers of rats used. * indicates statistically significant difference at $p < 0.05$. Details are described in reference 20.

ニンの産生が起こっていることが次の実験によって明らかとなった。ブラジキニンの分解酵素キナーゼ II の阻害薬であるカプトプリル (Ca) を投与しておくと、正常ラット (Ki) では滲出液量と色素の滲出速度が有意に増加する。しかしキニンの基質であるキニンゲンが血漿中にならぬラット (Ka) では増加が認められず液量はごく僅かである。この時滲出液中のプロスタグランジンを測定すると、PGI $_2$ の安定代謝物である 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ が最も量的に多く、正常ラットではカプトプリルの前処置で、トロンボキサン A $_2$ の安定代謝物のトロンボキサン B $_2$ (TXB $_2$), PGE $_2$ とともに有意に増加したが、Ka ラットではごく僅かで変化がなかった。したがってごく僅かのブラジキニンが産生されると、ホスホリパーゼの活性化を介してこの場合には、主に PGI $_2$ が産生されることが明らかとなった。一方、ブラジキニンやヒスタミンの血管透過性亢進作用が、プロスタグランジンの共存によって増強されることは、幾つかの例があるが、ヒスタミン、ブラジキニンと PGE $_2$, PGI $_2$ の相互作用はラットの背部皮内での反応で明らかである。¹⁸⁾ 以上を総じて考察すると炎症局所に産生されるメディエーターが相互に影響しあって、炎症反応の進展に寄与していることが推定される。

Fig. 8. Effect of Simultaneous Treatment of CV-6209 and Cyproheptadine on Zymosan-Induced Rat Pleurisy at 0.5 h

CV-6209 (1 mg/kg) was injected into a tail vein 5 min prior to zymosan injection. Cyproheptadine (5 mg/kg) was injected intraperitoneally 30 min prior to zymosan injection. Numbers in parentheses show numbers of rats used, and vertical bars represent standard errors. * and ** indicate values that are significantly different at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, from those of the control or as indicated. (21)

Fig. 9. Involvement of Complement Activation in Zymosan-Induced Rat Pleurisy

In panel [A], rats were pretreated with cobra venom factor (CVF), 75 μ g/kg intravenously 24 h before (solid columns). The treatment that depleted the complement system almost to an undetectable level is shown at the right side of panel [A] as serum complement level (CH50). * and ** indicate values that are significantly different at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, from those of the control (open columns). Panel [B] shows the time course of CH50 measured in the serum (solid circles) and in the exudates (open circles) during zymosan-induced pleurisy. Details are shown in reference 21.

3-4. ザイモサン胸膜炎におけるヒスタミン、補体、PAFの関与 ザイモサン胸膜炎は Fig. 5 に示すように、滲出液貯留も白血球浸潤もカラゲニン胸膜炎とよく似た経過を示している。しかしながら初期に関与する炎症メディエーターの種類は興味深いことに全く異なっている。Fig. 8 に示すように、ザイモサン胸膜炎の 30 分においてはヒスタミン、セロトニンが強く血漿滲出に働いているが、すぐに補体が活性化される。補体の活性化は胸腔内に限られ、血漿中では起こらない (Fig. 9)。コブラ毒因子

(CVF) を投与すると補体系を活性化して枯渇することができる。Fig. 10 に示すように 24 時間前に CVF 処理をしたラットではゼイモサン胸膜炎 (5 時間) の滲出液貯留, 白血球浸潤は有意に抑制された。²¹⁾ このことからゼイモサン胸膜炎において補体は血漿漏出と白血球遊走の両方に大きく寄与していることが明らかとなった。次いで胸腔内に PAF が産生される。PAF が滲出液貯留と白血球浸潤に関与していることは, PAF 受容体拮抗薬である CV3988 CV2609 などによってこれらが有意に抑制されることから明らかとなった。²²⁾ Fig. 11 に補体の枯渇と PAF 拮抗薬 CV-6209 による前処置の影響を示した。両者の前処置で著明な抑制が観察されている。さらにゼイモサン胸膜炎の滲出液中から PAF を検出定量することができ, 確かに PAF が産生されていることが確認された。²²⁾

Fig. 10. Effect of Cobra Venom Factor (CVF) on Zymosan-Induced Rat Pleurisy at 5 h

* and ** indicate values that are significantly different at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, from those of the control. Other condition was the same as those in Figs. 3, 4.

3-5. 胸膜炎滲出液中のサイトカインの産生と他のメディエーターとの関係 カラゲニンやゼイモサン胸膜炎の白血球浸潤には, ケモカインの関与が示唆されている。カラゲニン胸膜炎では 3 時間後に, ゼイモサン胸膜炎では 5 時間後に好中球を中心とした白血球浸潤がみられる。これより前の時間帯に, 胸腔内に, $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6, CINC (cytokine-induced neutrophil chemoattractant) が次々に検出された。^{23, 24)} この結果は Fig. 4, Fig. 5 の下段に時間経過としてまとめた。またこれらのサイトカインをラットの胸腔内に投与すると一定時間後に好中球の浸潤がみられたことから, これらのサイトカインが次々に産生され, 白血球浸潤に関与していることが明らかとなった。²⁵⁾ さらに, $\text{TNF}\alpha$, IL-1 の胸腔内投与では, IL-6, CINC の産生誘導が生じることも示された。

抗炎症薬のインドメタシンやデキサメタゾンを前投与するとラット胸膜炎の炎症は有意に抑制される。この時, 胸腔滲出液中の PGE_2 量は著明に抑制されているが, サイトカインについてはそれぞれ異なっていた。この点について調べたところ, インドメタシン処置ラットのカラゲニン胸膜炎 3 時間後の滲出液ではコントロールのラットに比して, $\text{TNF}\alpha$, IL-1 は有意な増加がみとめられ, IL-6, CINC は抑制された。デキサメタゾンの前処置ではいずれのサイトカイン産生も抑制された。²⁶⁾ また, 他の報告にもあるように, *in vitro* でのラット・マクロファージのエンドトキシン (LPS) 刺激による $\text{TNF}\alpha$, IL-1 産生は PGE_2 , PGI_2 の共存や細胞内 cAMP を増加させることによって抑制されるが, IL-6, CINC は増加する。以上から内因性のプロスタグランジンが, これらのサイトカイン産生制御に深くかかわっていることが明らかとなった。さらに *in vivo* での実験では総合的なこれらのサイトカインそれぞれの相互作用

Fig. 11. Effect of Combined Treatment with Cobra Venom Factor (CVF) and/or CV-6209 on Zymosan-Induced Rat Pleurisy at 5 h

CVF (7.5 μg/100 g body weight/100 μl) was injected into a tail vein 24 h prior to zymosan injection. CV-6209 (1 mg/kg) was injected by the same route 5 min prior to zymosan injection. Numbers in parentheses show numbers of rats used, and vertical bars represent standard errors. * and ** indicate values that are significantly different at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, from those of the control or as indicated. NS: not significant.

に加えてオータコイドとサイトカインの関係やその相互作用が複雑に絡み合っていて、しかも、炎症の反応時間によって異なるパターンを示すことが明らかとなってきた。

4. おわりに

以上幾つかの炎症反応のメディエーターの産生の時期や役割、また相互のクロストークについて述べてきた。これらの結果は Fig. 4 と Fig. 5 にまとめたことで、一覧できる。炎症反応の徴候は同じような反応を示している、実際に検出されるメディエーターは少しずつ異なり、量的にも異なっている。このことは炎症のメディエーター自身が重複した性質を持ち類似した反応を示すことができることを意味している。サイトカインも同様である。生体はこれほどに複雑なのである。これらのことを考えると、メチニコフが研究してきた単細胞の生物から既に始まっている炎症反応の機序を高等動物はうまく利用しながら、長い時間をかけて進化してきたのであろう。研究が進めば進むほど新しく未知の分野が広がっていくのに驚きを新たにしているところである。

REFERENCES

- 1) Spector W. G., Willoughby D. A., "The pharmacology of Inflammation," The English Universities Press Ltd., London, 1968, p. 1.
- 2) Movat H. Z., "The Inflammatory Reaction", Elsevier, Amsterdam, 1968, p. 1.
- 3) Ebert R. H., Grant L., "The Inflammatory Process," Vol. II, ed. by Zweifach B. W., Grant L., McCluskey R. T., 1974, pp. 4-49.
- 4) Oh-ishi S., "Kinin and Angiotensin. Molecular Mechanism for Biological Regulation," ed. by Oh-ishi S., Kato H., Miyake Y., Kodansha Scientific, Tokyo, 1994, p. 11.
- 5) Ueno A., Oh-ishi S., Kitagawa T., Katori M., *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 1659-1664 (1981).
- 6) Yamasu A., Oh-ishi S., Hayashi I., Hayashi K., Hayashi M., Yamaki K., Nakano T., Sunahara N., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **12**, 287-292 (1989).
- 7) Hayashi I., Oh-ishi S., Enjyoji K., Kato H., Iwanaga S., *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 3502-3505 (1986).
- 8) Regoli D., *Pharmacol. Rev.*, **32**, 1-46 (1980).
- 9) Regoli D., Allogho S. N., Rizzi A., Gobeil F. J., *Eur. J. Pharmacol.*, **348**, 1-10 (1998).
- 10) Hirasawa N., Ohuchi K., "Experimental Methods for Biological & Pharmaceutical Sciences, Series 12, Inflammation and Allergy," ed. by Ohuchi K., Hirokawa, Tokyo, 1986, p. 471.
- 11) Yamaki K., Oh-ishi S., "Experimental Methods for Biological & Pharmaceutical Sciences, Series 12, Inflammation and Allergy," ed. by Ohuchi K., Hirokawa, Tokyo, 1986, p. 520.
- 12) Yamaki K., Oh-ishi S., *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 3526-3529 (1986).
- 13) Yamaki K., Oh-ishi S., *Jpn. J. Pharmacol.*, **58**, 299-307 (1992).
- 14) Hayashi M., Kimura J., Yamaki K., Suwabe Y., Dozen M., Imai Y., Oh-ishi S., *Thrombosis Res.*, **48**, 299-310 (1987).
- 15) Utsunomiya I., Nagai S., Oh-ishi S., *Eur. J. Pharmacol.*, **252**, 213-218 (1994).
- 16) Oh-ishi S., *Yakurigaku Zasshi*, **110**, 59-67 (1997).
- 17) Oh-ishi S., Hayashi I., Hayashi M., Yamaki K., Yamasu A., Nakano T., Utsunomiya I., Nagashima Y., *Agent. Action*, **18**, 450-454 (1986).
- 18) Oh-ishi S., Hayashi M., Yamaki K., *Pros. Leuk. Med.*, **22**, 21-33 (1986).
- 19) Oh-ishi S., *Yakugaku Zasshi*, **117**, 739-748 (1997).
- 20) Dozen M., Yamaki K., Oh-ishi S., *Jpn. J. Pharmacol.*, **51**, 101-105 (1989).
- 21) Imai Y., Hayashi M., Oh-ishi S., *Jpn. J. Pharmacol.*, **57**, 225-232 (1991).
- 22) Imai Y., Hayashi M., Oh-ishi S., *Lipids*, **26**, 1408-1411 (1991).
- 23) Utsunomiya I., Nagai S., Oh-ishi S., *J. Immunol.*, **147**, 1803-1809 (1991).
- 24) Utsunomiya I., Ito M., Oh-ishi S., *Cytokine*, **10**, 956-963 (1998).
- 25) Utsunomiya I., Ito M., Watanabe K., Tsurufuji S., Oh-ishi S., *Br. J. Pharmacol.*, **117**, 611-614 (1996).
- 26) Oh-ishi S., Utsunomiya I., Yamamoto T., Komuro Y., Hara Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **300**, 255-259 (1996).