

◎原 著

Tranilast (Rizaben[®]) の抗アレルギー作用について

谷崎 勝朗, 駒越 春樹¹⁾, 周藤 真康¹⁾
森永 寛¹⁾, 大谷 純²⁾, 木村 郁郎²⁾

岡山大学医学部附属環境病態研究施設基礎環境病態学分野

¹⁾岡山大学医学部附属病院三朝分院内科

²⁾岡山大学医学部第2内科

要旨 抗アレルギー剤(脱顆粒抑制剤)の1つであるtranilastの肥満細胞の遊離機序に対する抑制作用について検討を加えた。1. 抗原刺激時の肥満細胞の⁴⁵Ca uptake およびヒスタミン遊離に対して, tranilastは有意の抑制作用を示したが, comp. 48/80刺激時にはtranilastの⁴⁵Ca uptake, ヒスタミン遊離に対する抑制作用はほとんどみられなかった。

2. phosphatidylserine 添加時には,⁴⁵Ca uptakeに対するtranilastの抑制作用は減弱傾向を示し, この傾向はヒスタミン遊離に対する作用に比べより高度であった。

3. 抗原および抗ヒトIgEによる好塩基球からのヒスタミン遊離に対して, tranilastは明らかな抑制作用を示さなかった。

キーワード: トラニラスト, ⁴⁵Ca取りこみ, ヒスタミン遊離, 肥満細胞, 好塩基球
tranilast, ⁴⁵Ca uptake, histamine release, mast cell, basophils

緒 言

気管支喘息の発症機序の1つとして, IgE抗体の関与するI型アレルギー反応の存在が明らかにされている。この反応系では, 抗原暴露によりIgE抗体のtarget cellである組織肥満細胞や末梢血好塩基球からchemical mediatorが遊離され, 気管支攣縮その他の気管支反応が惹起されると考えられている。そして, この肥満細胞からのchemical mediator遊離を抑制する薬剤としてDS CG (Intal[®])が開発され, 吸入による喘息の予防的薬剤として注目されてきた。その後同様の作用機序を有し, しかも経口投与が可能である薬剤としてtranilast (Rizaben[®])やKetotifen (Zaditen[®])などが開発され, 抗喘息薬として臨床応用されるに至っている。これら薬剤は, 投与方法に差はあるとしても, そして作用機序にも多少の差がみられるとしても, 肥満細胞からのchemical mediatorの遊離を抑制すると言う共通の薬理作用を有していると考えられている。

近年肥満細胞や好塩基球のchemical mediatorの遊離機序に, 細胞外Ca²⁺の細胞内への流入が

注目されている^{1) 2)}。そして, この細胞内へのCa²⁺流入を抑制する作用を有する薬剤は, その結果としてchemical mediatorの遊離を抑制するものと考えられている³⁾。本論文では, 肥満細胞の⁴⁵Ca uptakeおよび末梢血好塩基球からのヒスタミン遊離に対するtranilastの抑制作用について若干の検討を加えた。

対象ならびに方法

対象としては, 肥満細胞の⁴⁵Ca uptakeの実験系には, 体重200~250gの雄または雌のSprague-Dawley系ラットを使用した。また好塩基球からのヒスタミン遊離実験には, ハウスダストが特異抗原である気管喘息患者末梢血を使用した。

ラットを卵白アルブミン50 μg/mlおよび百日咳ワクチン8 × 10⁸ /mlを含む生理食塩水0.5mlを両側大腿部に筋肉内注射することにより感作し, 感作後10~12日で屠殺し腹腔肥満細胞を採取した。この肥満細胞を抗原刺激時の⁴⁵Ca uptakeおよびヒスタミン遊離の実験に供した。腹腔から採取した後, 40% (w/v) BSAおよび56% (w/v) BSAの2段階濃度勾配法により分離した。この

肥満細胞を各種濃度の tranilast で 20 分間 preincubation した後、抗原 (卵白アルブミン $10 \mu\text{g}/\text{ml}$) および comp 48/80 ($10 \mu\text{g}/\text{ml}$) 刺激時の肥満細胞の ^{45}Ca uptake およびヒスタミン遊離を観察し、その抑制効果を検討した。

肥満細胞の ^{45}Ca uptake は、前報の方法^{3) 4)} に準じて行った。各試験管に 0.1 ml の ^{45}Ca chloride ($3 \mu\text{Ci}/\text{ml}$) および 0.7 ml の Tyrode 液 ($10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の卵白アルブミンを含む) を入れ、 37°C 恒温槽中であらかじめ温めた。そして、 0.2 ml の肥満細胞浮遊液 ($5 \times 10^5/\text{ml}$) を加え、おだやかに振盪させながら 10 分間 incubate した。incubation 終了後あらかじめ氷水で冷やした生理食塩水 5 ml を加え反応を stop させた後、生理食塩水による洗浄を 2 回くりかえし、最後に glass microfiber filter により残存する free の ^{45}Ca を除去した。そして、liquid scintillation counter により細胞内へ取りこまれた ^{45}Ca の radioactivity を測定した。

肥満細胞からのヒスタミン遊離は、 ^{45}Ca uptake とほぼ同一条件下で行った。また好塩基球からのヒスタミン遊離は、前報の方法^{5) 6)} に準じて全血法により行った。静脈血 4 ml に各種濃度の tranilast を添加し 20 分間 preincubation した後、至適濃度の抗原 (ハウスダスト) または抗ヒト IgE を添加し 15 分間 incubation した。incubation 終了後試験管を氷水中に入れ反応を stop させた後、上清中および細胞内のヒスタミン含量を測定し、結果は % ヒスタミン遊離として表わした。なおヒスタミン量はヒスタミン自動分析装置⁷⁾ (テクニコン) により測定した。

成 績

1. ^{45}Ca uptake およびヒスタミン遊離に対する抑制作用

抗原刺激後の肥満細胞の ^{45}Ca uptake は $703 \pm 4.0 \text{ cpm}$ (mean \pm SE) であった。一方 tranilast 前処置肥満細胞では、tranilast $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ では $607 \pm 9.0 \text{ cpm}$ 、 $5.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ では $399 \pm 8 \text{ cpm}$ 、 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ では $408 \pm 13 \text{ cpm}$ であり、tranilast $5.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ および $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度ではいずれも肥満細胞の ^{45}Ca uptake に対する明らかな抑制作用が観察された。同様に抗原刺激後の肥満細胞からの

% ヒスタミン遊離は $37.4 \pm 2.4\%$ であったが、tranilast 前処置肥満細胞では $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ で $23.1 \pm 1.4\%$ 、 $5.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ では $18.8 \pm 1.0\%$ 、 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ では $22.7 \pm 1.3\%$ であり、いずれの濃度においても明らかな抑制効果が観察された。

一方 comp 48/80 による肥満細胞の ^{45}Ca uptake は $702 \pm 14 \text{ cpm}$ 、tranilast $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 前処置肥満細胞では $615 \pm 12 \text{ cpm}$ 、 $5.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ では $606 \pm 56 \text{ cpm}$ 、 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ では $626 \pm 51 \text{ cpm}$ であり、いずれの濃度においてもその抑制効果は極めて弱いものであった。同様に comp. 48/80 によるヒスタミン遊離に対しても、 ^{45}Ca uptake 同様その抑制効果は抗原刺激時に比べて極めて弱くことが明らかにされた (図 1)。

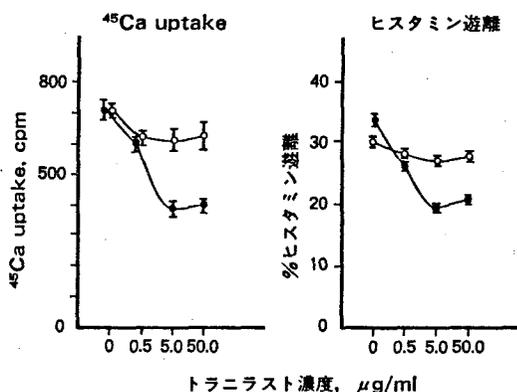


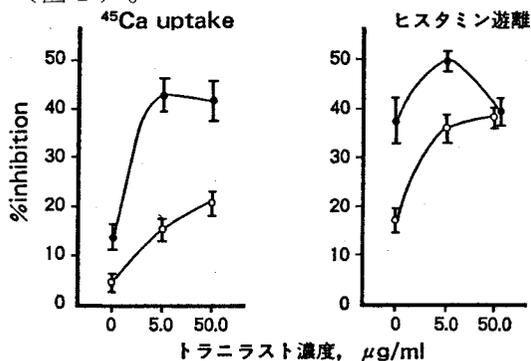
図 1. 抗原 (●—●) および comp. 48/80 (○—○) 刺激による肥満細胞の ^{45}Ca uptake およびヒスタミン遊離に対するトランラストの効果

2. phosphatidylserine 添加の影響

抗原刺激の際の分泌機序の特徴の 1 つは、phosphatidylserine 添加により chemical mediator の遊離増強がみられることであり、この現象は抗原刺激時の細胞膜 phospholipid 代謝と関連していると考えられている。phosphatidylserine $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 添加時の ^{45}Ca uptake ($2090 \pm 35 \text{ cpm}$) は無添加時 (抗原刺激のみ) ($770 \pm 13 \text{ cpm}$) と比べてかなり高い値を示した。この phosphatidylserine 添加による肥満細胞の ^{45}Ca uptake 増強に対して、tranilast は濃度依存性の抑制効果を示したものの、その抑制率は無添加時 (抗原のみの刺激時) に比べて明らかに低い値を示した。一方 phosphatidylserine 添加によるヒスタミン遊離の増加に対しては、濃度依存性の抑制効果を示した。その抑

制率は無添加時と比べやや低い値であったが、 ^{45}Ca uptakeと異なり明らかな抑制効果として観察された。

これらの結果は、tranilastにより細胞内への Ca^{2+} 流入が十分抑制されない場合でも、ヒスタミン遊離は有意に抑制されることを意味している(図2)。



2. 抗原(●)および抗原+phosphatidylserine(10 $\mu\text{g/ml}$) (○)刺激時の肥満細胞の ^{45}Ca uptake およびヒスタミン遊離に対するトラニラストの効果

3. 好塩基球からのヒスタミン遊離に対する抑制作用

抗原(ハウスダスト)および抗ヒトIgE刺激により、いずれの症例においても好塩基球からの有意のヒスタミン遊離が観察された。これらの刺激による好塩基球からのヒスタミン遊離に対して、tranilastはいずれの濃度においても明らかな抑制作用を示さなかった。

考 案

肥満細胞や好塩基球からのchemical mediator遊離を抑制する薬剤は、“喘息予防薬”ないし“脱顆粒抑制薬”として臨床応用されている。これら薬剤に共通した薬理作用は、chemical mediatorの遊離抑制であることは言うまでもない。しかし、mediator遊離抑制作用がどのような機序によって発現してくるかは、薬剤の種類によってある程度異っているものと考えられる。著者らは、 Ca^{2+} 拮抗薬が肥満細胞の ^{45}Ca uptakeを抑制し、その結果としてヒスタミン遊離を抑制することを報告した³⁾⁸⁾。さらに喘息予防薬であるDSCGにも Ca^{2+} 流入抑制作用があり、 Ca^{2+} 拮抗薬と類似した作用を有していることが示唆されている³⁾⁹⁾。本論文

では、DSCGとその薬理作用が類似していると考えられるtranilastについて、 ^{45}Ca uptakeに対する抑制作用を中心に検討を加えた。その結果、tranilastが抗原刺激時の肥満細胞の ^{45}Ca uptakeおよびヒスタミン遊離を有意に抑制することが明らかにされた。本論文の結果により、chemical mediator遊離を抑制する薬剤としては、 Ca^{2+} 拮抗薬、DSCG、tranilastなどがあることが明らかにされたが、これらの薬剤の Ca^{2+} 流入抑制作用はかなり異っている可能性が高い。特に Ca^{2+} 拮抗薬とDSCG、tranilastとの間には明らかな差がみられ、例えば前者は好塩基球からのヒスタミン遊離を抑制し得るが、後者にはその作用はみられない。また本論文においても観察されたごとく、tranilastによるヒスタミン遊離抑制作用は、必ずしも Ca^{2+} 流入抑制作用のみによるものではない可能性が高い。すなわち、tranilastは肥満細胞への Ca^{2+} 流入を抑制することにより、ヒスタミンその他のchemical mediatorの遊離を抑制するけれども、それ以外の遊離抑制機序を有している可能性が示唆される。

一方 Ca^{2+} 流入抑制作用、すなわち Ca^{2+} 拮抗作用を有していることは、肥満細胞に対する作用以外に、気管支平滑筋や分泌腺に対する抑制作用を同時に有している可能性も示唆される。いずれにせよ、その長期的臨床効果の観察と同時に、今後より詳細な作用機序の検討がなされなければならない薬剤の1つであると考えられる。

結 語

喘息予防薬の1つであるtranilastについて、肥満細胞の ^{45}Ca uptakeを中心にその抑制作用を検討した。その結果、tranilastは抗原刺激時の肥満細胞の ^{45}Ca uptakeおよびヒスタミン遊離に対して有意の抑制作用を示すが、comp.48/80刺激時にはほとんど抑制作用を示さないことが明らかにされた。

参考文献

- 1) Foreman, J.C., Hallett, M.B. and Mongar, J.L.: The relationship between histamine release and ^{45}Ca uptake by mast cells. J. Physiol. 271, 193-214, 1977.

- 2) Ishizaka, T., Hirata, F., Ishizaka, K. and Axelrod, J. : Stimulation of phospholipid methylation, Ca^{2+} influx and histamine release by bridging of IgE receptors on rat mast cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 1903-1906, 1980.
- 3) Tanizaki, Y., Akagi, K., Lee, K. N. and Townley, R. G. : Inhibitory effect of nifedipine and cromolyn sodium on skin reactions and ^{45}Ca uptake and histamine release in rat mast cells induced by various stimulating agents. Int. Archs Allergy Appl. Immunol. 72, 102-109, 1983.
- 4) Tanizaki, Y., and Townley, R.G. : Effect of BSA on Ca^{2+} influx in mast cells stimulated by ovalbumin. Int. Archs Allergy Appl. Immunol. 70, 143-145, 1983.
- 5) Tanizaki, Y., Komagoe, H., Morinaga, H., Kitani, H., Goda, Y. and Kimura, I. : Allergen- and anti-IgE-induced histamine release from whole blood. Int. Archs Allergy Appl. Immunol. 73, 141-145, 1984.
- 6) Tanizaki, Y., Komagoe, H., Sudo, M., Morinaga, H., Kitani, H., Goda, Y., Tada, S., Takahashi, K. and Kimura, I. : IgE-mediated histamine release from whole blood in atopic asthmatics. Jpn J. Allergol. 32, 1079-1083, 1983.
- 7) Siraganian, R. P. : An automated continuous-flow system for the extraction and fluorometric analysis of histamine. Analyt. Biochem. 57, 141-143, 1984.
- 8) 谷崎勝朗, 駒越春樹, 大谷 純, 貴谷 光, 高橋 清, 木村郁郎 : ラット腹腔肥満細胞の ^{45}Ca uptake およびヒスタミン遊離に対する Ca^{2+} 拮抗薬 Nicardipine の抑制作用, アレルギ- 34, 204-209, 1985.
- 9) Tanizaki, Y., Komagoe, H., Ohtani, J., Maeda, M., Kitani, H., Takahashi, K. and Kimura, I. : Effect of DSCG on immunological secretory process of mast cells. Relationship to the tachyphylaxis. Jpn J. Clin. Immun. 7, 201-207, 1984.
- Studies on anti-allergic actions of tranilast (Rizaben®)**
- Yoshiro Tanizaki, Haruki Komagoe,¹⁾ Michiyasu Sudo,¹⁾ Hiroshi Morinaga,¹⁾ Jun Ohtani²⁾ and Ikuro Kimura²⁾
- Institute for Environmental Medicine, Okayama University Medical School
¹⁾ Department of Medicine, Misasa Hospital, Okayama University Medical School
²⁾ 2nd Department of Medicine, Okayama University Medical School
- Tranilast is clinically used for bronchial asthma as one of the prophylactic agents for asthma attacks. In this study, anti-allergic actions of tranilast were examined in ^{45}Ca uptake of and histamine release from target cells of IgE after stimulation with antigen, anti-IgE and comp. 48/80.
1. ^{45}Ca uptake of and histamine release from rat peritoneal mast cells stimulated by antigen were significantly inhibited by preincubation of the cells with tranilast. Inhibition by tranilast of increased ^{45}Ca uptake of mast cells by addition of phosphatidylserine were less, although inhibition of histamine release was not so affected by addition of phosphatidylserine.
- No significant inhibition by tranilast of ^{45}Ca uptake and histamine release was not observed when the cells were stimulated by comp. 48/80.
2. Tranilast showed any inhibitory effects on basophil histamine release induced by antigen and anti-IgE.