

クロロキンによる気管支喘息の臨床的 並びに薬理学的研究

第 2 編

気管支喘息に対するクロロキンの作用機序に関する研究

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

大 学 院 守 谷 欣 明
医学研究科

〔昭和40年9月28日受稿〕

内 容 目 次

<p>I 緒 言</p> <p>II 実験方法</p> <p>1. 抗ヒスタミン作用及び抗セロトニン作用に関する実験</p> <p>2. 抗炎症作用に関する実験</p> <p>3. 抗アレルギー作用に関する実験</p> <p>4. 使用薬物</p> <p>III 実験成績</p> <p>1. モルモットの摘出腸管におけるクロロキンの抗ヒスタミン作用及び抗セロトニン作用</p> <p>1) 摘出腸管に対するヒスタミン、セロトニン及びクロロキンの作用</p> <p>2) クロロキンの抗ヒスタミン作用</p> <p>3) クロロキンの抗セロトニン作用</p> <p>2. ラット後足の炎症性浮腫におけるクロロキ</p>	<p>ンの抗炎症作用</p> <p>1) 各種起炎物質による浮腫発生の経過</p> <p>2) ヒスタミン浮腫に対するクロロキンの効果</p> <p>3) セロトニン浮腫に対するクロロキンの効果</p> <p>4) 抗血清による浮腫に対するクロロキンの効果</p> <p>5) 抗血清による浮腫に対するクロロキン及びプレドニゾロンの効果</p> <p>3. モルモットの受働性皮膚過敏症におけるクロロキンの抗アレルギー作用</p> <p>IV 総括並びに考按</p> <p>V 結 語</p>
---	--

I 緒 言

クロロキンは抗マラリア剤として合成されたキノリン誘導体であるが¹⁾、抗原虫、抗寄生虫剤²⁾³⁾⁴⁾にとどまらず、エリテマトーデス⁵⁾、関節リウマチ⁶⁾等の疾患に広く応用され、近年特に注目を集めていることは周知の通りである。一方これら適応疾患の開拓とともに漸次クロロキンの複雑な作用機序が解明され、多くの興味ある薬理作用が報告されているが、その作用機序の本態についてはなお且不明な点が多い。私はクロロキンの抗ヒスタミン作用⁷⁾、抗アセチルコリン作用⁷⁾、抗炎症作用⁸⁾、抗アレルギー作用⁹⁾、抗体不活性化作用⁸⁾あるいは線維芽細胞抑制作用⁸⁾等の薬理作用及びその体質改善の要素

に注目し、前編においてクロロキンを気管支喘息の治療に応用し、長期に亘り多数の本症患者について詳細な検討を行なった結果、従来の治療法に比し可成り優れた成績を得ることが出来た。

気管支喘息に対するクロロキンの作用機序について、抗ヒスタミン作用、抗炎症作用、抗アレルギー作用等の薬理作用は本症に対する作用機序として重視すべきものと考えられるにもかかわらず、クロロキンのこれらの薬理学的性質についての知見は乏しく、未だ十分な実験的検討が見当らない。私はクロロキンの薬理作用について、モルモットの摘出腸管、ラット後足の炎症性浮腫及びモルモットの受働性皮膚過敏症を選び、先ずヒスタミン及びセロトニンに対する作用を明らかにし、次に各種起炎物質に

よる炎症に対する態度に検討を加え、さらに臨床的見地からみて重要な形式の炎症病態と考えられるアレルギー性炎症に対する効果について検討を行なった。

II 実験方法

1. 抗ヒスタミン作用及び抗セロトニン作用に関する実験

モルモットの摘出腸管を用い、Magnus 装置にてヒスタミンあるいはセロトニンによる腸管の収縮に対する拮抗作用によりクロロキンの抗ヒスタミン作用及び抗セロトニン作用の検討を行なった。すなわち体重 300g 前後の雌モルモットの回腸より回盲部に近い運動著明な部分約 2cm を摘出し、37°C の Tyrode 液温浴槽中に懸垂して酸素を通じながらヒスタミンあるいはセロトニンによる腸管の収縮に及ぼすクロロキンの影響をキモグラフ上に画いた。先ずヒスタミンあるいはセロトニンを投与して得られた腸管の収縮がクロロキンを投与して緩解するか否かを検討した。次にこれを Tyrode 液で繰り返し洗滌した後、クロロキンを投与し、続いてヒスタミンあるいはセロトニンを投与して腸管が収縮するか否かを検討した。

なお各薬剤は10進法的に Tyrode 液で希釈して温浴槽中に滴下し、あらかじめ腸管に対する各薬剤単独の作用を検討し、最低有効濃度を求めて実験を行なった。

2. 抗炎症作用に関する実験

ラットの後足に発生させた実験的浮腫に対する抑制効果によりクロロキンの抗炎症作用の検討を行なった。すなわち体重 100g 前後のラットを用い、ヒスタミン 20 μ g、セロトニン 0.1 μ g あるいはデキストラン 3mg を含む生理食塩水 0.1cc 及び抗ラット家兎血清 0.1cc を各々後足の足背皮下に注射して炎症性浮腫を発生させた。先ず対照として生理食塩水 1cc を腹腔内に投与し、1時間後に一側の後足に浮腫を発生させ、次に24時間間隔でクロロキン 50mg/kg を生理食塩水 1cc に希釈して腹腔内に投与し、1時間後に同様にして他側の後足に浮腫を発生させ、左右足の浮腫の強度を比較検討した。

浮腫の強度は宇田¹⁰⁾の方法に準じてスプリングを弱く調整した Microgauge を用い、後足の背蹠の厚みを起炎物質注射後 15分、30分、60分、90分、120分、180分と経時的に測定し、注射前の値を100として、これに対する比率をもつて表わした。また

抑制効果は左右足の浮腫曲線を比較検討し、さらに次式により各測定時間における浮腫抑制率を算出した。

浮腫抑制率(%)=

$$\frac{\text{対照足の浮腫強度} - \text{実験足の浮腫強度}}{\text{対照足の浮腫強度}} \times 100$$

なお各起炎物質は生理食塩水に溶解し、予め互に近似した浮腫強度を示す用量を求めて実験を行なった。また抗血清による浮腫についてはプレドニゾンによる抑制効果を併示し、いずれも各群3例平均値を示した。

3. 抗アレルギー作用に関する実験

モルモットの腹部皮内に惹起した受働性皮膚過敏症 (Passive Cutaneous Anaphylaxis, PCA と略記) に対する抑制効果によりクロロキンの抗アレルギー作用の検討を行なった。すなわち体重 150g 前後の白色雄モルモットを用い、抗卵白アルブミン家兎血清 0.1cc を除毛した腹部皮内に注射し、4時間後卵白アルブミン 50mg/kg と 1% Pelikan 墨汁を含む生理食塩水 5cc/kg を同時に心腔内に注射して PCA を惹起した。クロロキンは 100mg/kg を生理食塩水 1cc に希釈して抗原適応1時間前に腹腔内に投与し、対照として同量の生理食塩水を用いた。

PCAの強度は抗原適応1時間後に屠殺して皮膚を剥離し、皮膚内面における着色部位の面積測定及び着色の程度、炎症反応の程度によつて局所反応の強度を判定した。抑制効果の判定は山崎ら¹¹⁾の方法に従い、着色面積は剥離した皮膚内面の着色部位の輪廓をセロファン紙に写しとり、その面積を Planimeter により計測して比較検討した。また着色強度は 20cm 隔てた硫酸紙を透して着色を認めるものを 4, 10cm 隔てて同じ方法で着色を認めるものを 3, 同様に着色の識別は困難であるが肉眼では明瞭に認められるものを 2, 極めて着色の弱いものを 1 として表わした。さらに炎症反応強度は出血、充血及び浮腫の著しいものを 3, 出血、充血または浮腫を軽度で認めるものを 2, 出血及び浮腫を認めず僅かに充血の見られるものを 1 として表わした。

4. 使用薬物

被検薬物クロロキンは Chloroquine diphosphate (7-chloro-4-(4'-diethylamino-1'-methylbutylamino)-quinoline diphosphate, Bayer) を用いた。Chloroquine diphosphate は無臭、苦味のある白色結晶性の粉末で水に溶解し、その 5% 水溶液は無色透明で pH

4.28であるが、これを Tyrode 液あるいは生理食塩水で稀釈した時は溶媒と同じ pH を示した。(図1)

図1 クロロキン (構造式)



7-クロル-4-(4'-ジエチルアミノ-1'-メチルプロピルアミノ)-キノリン

またヒスタミンは Histamine dihydrochloride (Sigma), セロトニンは 5-Hydroxytryptamine creatinine sulfate (Sigma), デキストランは Dextran (mol. wt. 75000±25000, 名糖), プレドニゾロンは Prednisolone sod. hemisuccinate (塩野義), 卵白アルブミンは Albumin ovi sicc. pulvis, subtilis (Merck) を用いた。なお抗ラット家兎血清及び抗卵白アルブミン家兎血清は白色家兎にラット血清 1cc 及び卵白アルブミン 15mg/kg を隔日に10回耳静脈より注射し, 10日後に採血して血清を分離し, 氷室に保存したものを適宜使用した。

III 実験成績

1. モルモットの摘出腸管におけるクロロキンの抗ヒスタミン作用及び抗セロトニン作用
 - 1) 摘出腸管に対するヒスタミン, セロトニン及びクロロキンの作用

先ずモルモットの摘出腸管に対するヒスタミン, セロトニン及びクロロキン単独の作用及び最低有効濃度について検討を行なった。

ヒスタミンは腸管運動に対して亢進的に働くことが知られているが, モルモットの摘出腸管に諸種の濃度のヒスタミンを作用させたところ, $10^{-7}\text{g}/\text{cc}$ の濃度で腸管の緊張上昇が認められ, $10^{-6}\text{g}/\text{cc}$ 以上の濃度で直ちに持続的な腸管収縮が得られた。またセロトニンも腸管運動に対して亢進的に働き, モルモットの摘出腸管に対するセロトニン感受性は $10^{-6}\text{g}/\text{cc}$ の濃度から認められた。すなわちセロトニン $10^{-6}\text{g}/\text{cc}$ の濃度で腸管の緊張上昇が認められたが直ちに緩解し, $2 \times 10^{-8}\text{g}/\text{cc}$ の濃度でヒスタミン $10^{-6}\text{g}/\text{cc}$ の濃度に相当する収縮高が得られた。しか

しセロトニンによる腸管収縮はヒスタミンの作用と異つて持続的でなく, 可成り速かに緩解して元の自動運動に復した。

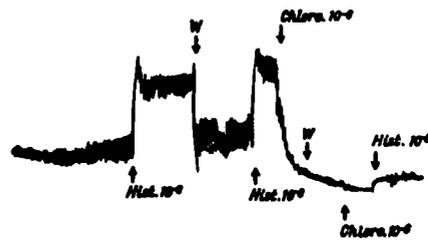
一方クロロキンは腸管運動に対して抑制的に働き, モルモットの摘出腸管に諸種の濃度のクロロキンを作用させたところ, $10^{-8}\text{g}/\text{cc}$ 以下の濃度では腸管の自動運動に変化はなく, $10^{-7}\text{g}/\text{cc}$ の濃度で自動運動が僅かに抑制され, さらに $10^{-6}\text{g}/\text{cc}$ 以上の濃度で一定期間持続する自動運動の抑制が認められた。

2) クロロキンの抗ヒスタミン作用

クロロキンの抗ヒスタミン作用はヒスタミンによる腸管収縮に対する拮抗作用により検討を行ない, 温浴槽中のヒスタミン及びクロロキンの濃度は各々腸管の収縮及び自動運動の抑制を認めた $10^{-6}\text{g}/\text{cc}$ の濃度で実験を行なった。

先ずヒスタミンの投与により一定の収縮高に達した後, クロロキンを後投与すると腸管の緊張は緩解し, 自動運動の抑制が認められた。次にこれを Tyrode 液で洗滌した後, クロロキンを前投与し, 続いてヒスタミンを投与しても腸管の緊張上昇は認められなかつた。すなわちモルモットの摘出腸管においてクロロキンはヒスタミンによる腸管収縮に対して完全な拮抗作用を示し, クロロキンの抗ヒスタミン作用を認めることが出来た。(図2)

図2 モルモット摘出腸管におけるクロロキンの抗ヒスタミン作用



磷酸クロロキン $1 \times 10^{-6}\text{g}/\text{cc}$
ヒスタミン $1 \times 10^{-6}\text{g}/\text{cc}$

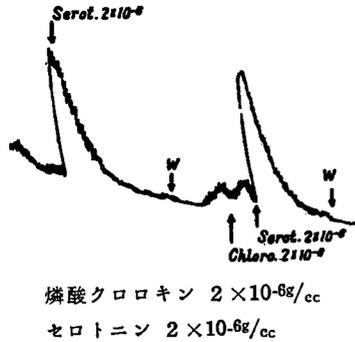
3) クロロキンの抗セロトニン作用

クロロキンの抗セロトニン作用について同様の方法で検討を行ない, 温浴槽中のセロトニン及びクロロキンの濃度は $2 \times 10^{-6}\text{g}/\text{cc}$ の濃度で実験を行なった。

摘出腸管に対するセロトニンの作用はヒスタミンと異なり持続的でなく, セロトニンによる腸管収縮は可成り速かに緩解して元に復するため, 先ずセロト

ニンの投与により一定の収縮高に達した後、クロロキンを後投与すると腸管収縮はセロトニン単独投与時と同様に緩解し、両者の間に差異は認められなかつた。次にクロロキンを前投与し、続いてセロトニンを投与してもセロトニン単独投与時と同様の腸管収縮が認められた。すなわちモルモットの摘出腸管においてクロロキンはセロトニンによる腸管収縮に対して影響を与えず、クロロキンの抗セロトニン作用を認めることは出来なかつた。(図3)

図3 モルモット摘出腸管におけるクロロキンの抗セロトニン作用



2. ラット後足の炎症性浮腫におけるクロロキンの抗炎症作用

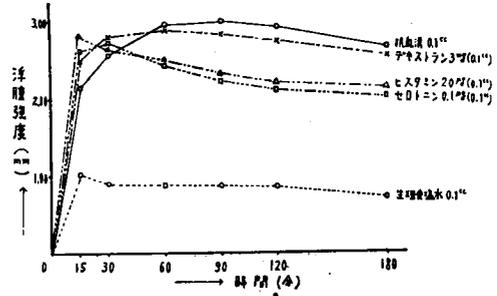
1) 各種起炎物質による浮腫発生の経過

先ず対照群についてヒスタミン 20 μ g, セロトニン 0.1 μ g あるいはデキストラン 3mg を含む生理食塩水 0.1cc 及び抗ラット家兎血清 0.1cc の局所注射により発生した浮腫を経時的に測定し、各種起炎物質による浮腫曲線の検討を行なつた。

上記起炎物質をラット後足の足背皮下に注射すると急速に強い浮腫が発生し、ヒスタミンでは15分後に、セロトニンでは30分後に、デキストランでは稍遅れて60分から90分後に最高値に達し、また抗血清では幾分異なつた経過をとり90分後に最高値に達し、起炎物質により浮腫発生の経過には多少の差が認められた。しかしその後はいずれも時間の経過とともに緩徐に減弱して快復に向う傾向を示したが、120分あるいは180分後もお高度の浮腫が持続した。またこれらの浮腫は起炎物質の溶媒として用いた生理食塩水 0.1cc の局所注射により発生した浮腫に比し明らかに強く、各起炎物質固有の作用によるもので、その最高値はヒスタミンでは投与前の57%、セロトニンでは56%、デキストランでは58%、また抗血清では60%増を示し、上記用量によりほぼ近似

した浮腫強度が得られた。(図4)

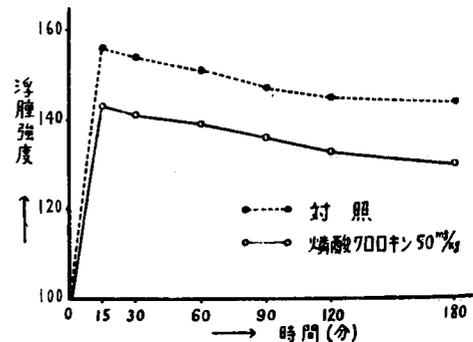
図4 各種起炎物質によるラット後足の実験的浮腫発生の経過



2) ヒスタミン浮腫に対するクロロキンの効果
クロロキンの抗炎症作用は各種化学物質及び抗血清によるラット後足の炎症性浮腫に対するクロロキンの抑制効果により検討を行なつた。

先ずヒスタミン浮腫については、対照群の浮腫強度はヒスタミン投与15分後最高値 157 に達し、その後は30分後 154, 60分後 152 と緩徐に減弱して、180分後 144 を示した。これに対してクロロキシン 50mg/kg 腹腔内投与群の浮腫強度はヒスタミン投与15分後最高値 144 に達し、30分後 142, 60分後 139 と同様に減弱して、180分後 130 を示した。従つて浮腫抑制率は最高値に達した15分後で8.27%、また最大浮腫抑制率は180分後で9.77%、さらに平均浮腫抑制率は8.50%と可成り高値を示した。すなわちラット後足のヒスタミンによる炎症性浮腫に対してクロロキシンは著明な抑制効果を示し、クロロキシンの抗炎症作用を認めることが出来た。(図5, 表1)

図5 ヒスタミン浮腫に対するクロロキシンの効果



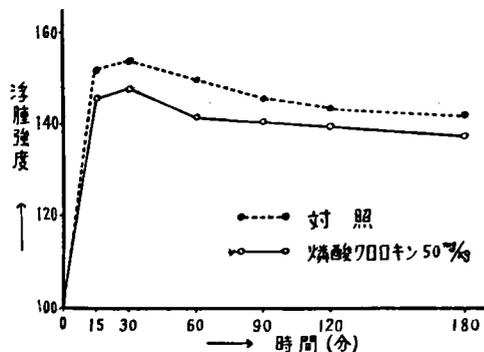
3) セロトニン浮腫に対するクロロキシンの効果
セロトニン浮腫の浮腫強度は、対照群ではセロト

表1 ラット後足の炎症性浮腫に対するクロロキンの効果
(磷酸クロロキン 50 mg/kg 腹腔内投与, 3例平均)

起質炎物	浮腫抑制率 (%)						平均
	15分	30分	60分	90分	120分	180分	
ヒスタミン 20 μg	8.27	8.49	8.60	7.53	8.33	9.77	8.49
セロトニン 0.1 μg	3.97	4.55	5.37	3.45	2.78	3.52	3.94
デキストラン 3 mg	1.85	1.79	1.90	2.15	1.79	1.17	1.78
抗血清 0.1cc	2.64	6.93	8.81	10.74	11.59	11.27	8.66

ニン投与30分後最高値156に達し、60分後151、180分後143と緩徐に減弱する経過を示した。一方クロロキン 50 mg/kg 投与群でも30分後最高値148に達し、60分後142、180分後138と近似した経過を示した。従つて浮腫抑制率は30分後で4.55%、最大浮腫抑制率は60分後で5.37%、また平均浮腫抑制率は3.94%とヒスタミン浮腫に比し可成り低値を示した。すなわちクロロキンの抗炎症作用について、ラット後足のセロトニンによる炎症性浮腫においては著明な抑制効果を認めることが出来なかつた。(図6, 表1)

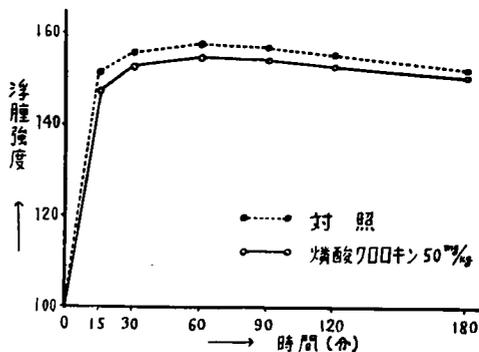
図6 セロトニン浮腫に対するクロロキンの効果



4) デキストラン浮腫に対するクロロキンの効果
対照群の浮腫強度はデキストラン投与60分後から90分後にかけて最高値156に達し、180分後153を示した。一方クロロキン 50 mg/kg 投与群では60分後最高値155に達し、90分後154、180分後151を示した。従つて浮腫抑制率は60分後で1.90%、最大浮腫抑制率は90分後で2.15%、また平均浮腫抑制率は1.88%とセロトニン浮腫よりもさらに低値を示し、クロロキンの抗炎症作用について、ラット後足のデキストランによる炎症性浮腫においては著明な抑制効果を認めることが出来なかつた。(図7, 表1)

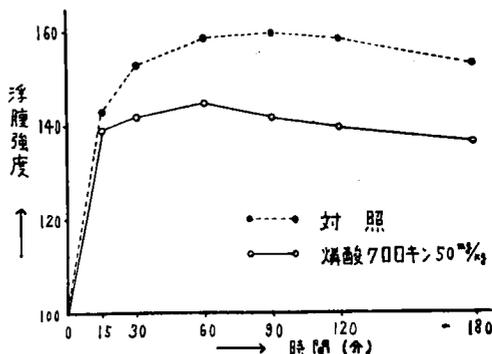
5) 抗血清による浮腫に対するクロロキンの効果
抗血清によるアレルギー-成因にもとづく炎症性浮

図7 デキストラン浮腫に対するクロロキンの効果



腫は他の化学物質による浮腫とは幾分異なつた経過をとり、対照群の浮腫強度は抗血清投与15分後は143と低値を示し、次第に増強して60分後159、90分後最高値160に達し、以後緩徐に減弱して120分後159、180分後154を示した。これに対してクロロキン 50 mg/kg 投与群の浮腫強度は15分後139、60分後最高値145に達し、以後減弱して120分後140、180分後137を示した。従つて浮腫抑制率は15分後では2.64%と低値を示したが、以後は各時間とも可成り著明な抑制効果を認め、60分後で8.81%、90分後で10.74%、また最大浮腫抑制率は120分後で11.59%、

図8 抗血清による浮腫に対するクロロキンの効果

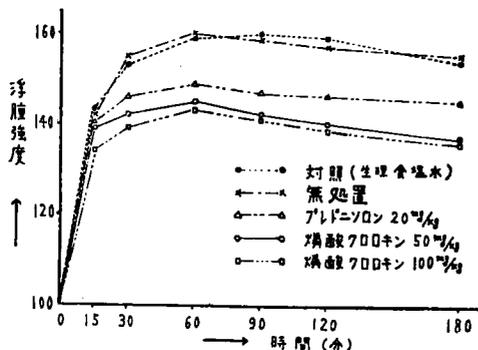


さらに平均浮腫抑制率は8.63%とヒスタミン浮腫に比し稍高値を示した。すなわちラット後足の抗血清による炎症性浮腫に対してクロロキンは著明な抑制効果を示し、アレルギー性炎症においてもクロロキンの抗炎症作用を認めることが出来た。(図8, 表1)

6) 抗血清による浮腫に対するクロロキン及びプレドニゾロンの効果

以上クロロキンの抗炎症作用の検討において著明な抑制効果をもつた抗血清による炎症性浮腫について、クロロキン 50 mg/kg, クロロキン 100 mg/kg, プレドニゾロン 20 mg/kg及び溶媒として用いた液量の生理食塩水の腹腔内投与による抑制効果を無処置群と比較検討した結果、クロロキン 100 mg/kg 投与群の浮腫抑制率は15分後で6.29%, 60分後で10.64%, 90分後で11.99%, また最大浮腫抑制率は120分後で12.40%, さらに平均浮腫抑制率は9.83%といずれもクロロキン 50 mg/kg 投与群に比し稍高値を示した程度で、クロロキンの投与量を倍増しても抑制効果に著明な差を認めることが出来なかつた。またプレドニゾロン 20 mg/kg 投与群の浮腫抑制率は15分後で2.38%, 60分後で6.28%, また最大浮腫抑制率は90分後で8.24%, さらに平均浮腫抑制率は5.94%とクロロキン 50 mg/kg 投与群に比し低値を示し、上記用量ではクロロキン程著明な抑制効果をもつたことは出来なかつた。なお生理食塩水投与群と無処置群の浮腫強度には差異を認めなかつた。(図9)

図9 抗血清による浮腫に対するクロロキン及びプレドニゾロンの効果



3. モルモットの受動性皮膚過敏症におけるクロロキンの抗アレルギー作用

クロロキンの抗アレルギー作用はモルモットの受動性皮膚過敏症(PCA)に対するクロロキンの抑制効

果により検討を行なつた。

先ず墨汁による腹部皮膚内面の着色面積の平均値は対照群では15.7cm²であつたが、これに対してクロロキン100mg/kg 腹腔内投与群ではいずれもこの値より小さく、その平均値は8.1cm²と約1/2の低値を示した。また着色強度についても対照群ではすべて4に対し、クロロキン投与群では3以下の低値を示し、さらに炎症反応強度についても対照群の3に対してクロロキン投与群では2以下の低値を示し、着色面積に応じた値が得られた。すなわちクロロキンはモルモットのPCAに対して著明な抑制効果を示し、クロロキンの抗アレルギー作用を認めることが出来た。(表2, 写真1)

表2 モルモットの受動性皮膚過敏症に対するクロロキンの効果
(磷酸クロロキン 100 mg/kg 腹腔内投与)

		着色面積 (cm ²)	着色強度	炎症反 応強度
対 照	No. 1	19.7	4	3
	No. 2	15.6	4	3
	No. 3	11.8	4	3
	平均	15.7		
磷 酸 クロロキン	No. 1	8.7	3	2
	No. 2	8.0	3	2
	No. 3	7.7	2	1
	平均	8.1		

IV 総括並びに考按

気管支喘息に対するクロロキンの作用機序を解明する目的で、モルモットの腸管、ラット後足の炎症性浮腫及びモルモットのPCAによりクロロキンの薬理作用について検討を行つた結果、抗ヒスタミン作用、抗炎症作用及び抗アレルギー作用を明らかにすることが出来た。すなわちモルモットの腸管においてクロロキンの抗ヒスタミン作用及び抗セロトニン作用を検討した結果、セロトニンによる腸管収縮に対しては影響を認めることが出来なかつたが、ヒスタミンによる腸管収縮に対して完全な拮抗作用を認めることが出来た。またラット後足の各種起炎物質による炎症性浮腫に対する抑制効果を示標とする方法でクロロキンの抗炎症作用を検討した結果、ヒスタミン浮腫に対して著明な抑制効果をもつた。またセロトニン浮腫及びデキストラン浮腫に対する抑制効果は微弱であつたが、抗血清によるアレルギー性炎症に起因する浮腫に対しても同様に著明

な抑制効果を認めることが出来た。さらにモルモットの PCA に対する抑制効果によりクロロキンの抗アレルギー作用を検討した結果、着色面積、着色強度及び炎症反応強度において強力な抑制効果を認めることが出来た。

クロロキンの抗ヒスタミン作用について、石原⁷⁾は同じくモルモットの摘出腸管において磷酸クロロキニンがヒスタミンによる腸管収縮に拮抗する作用を有すること、さらにアセチルコリンに拮抗する作用を有することを報告した。また私はクロロキニンがモルモットの摘出腸管に対して抑制的に働き、自動運動を抑制することを認めたが、腸管に対するクロロキニンの影響について、教室の木村及び永広¹²⁾は家兎の摘出腸管により詳細な検討を行ない、磷酸クロロキニンが腸管の自動運動を抑制し、しかも塩化バリウムによる運動亢進を抑制することから、クロロキニンの腸管弛緩作用が主として平滑筋麻痺によるものと推定した。一方クロロキニンの抗炎症作用について、Haberland^ら⁸⁾はモルモットの紫外線紅斑試験及び紫外線浮腫試験により磷酸クロロキニンが紫外線照射による炎症反応を抑制することを報告した。また教室の木村及び山名^ら¹³⁾はラットの Granuloma-Pouch 形成に及ぼす磷酸クロロキニンの影響を検討した結果、滲出液量、細胞数の減少とともに Pouch の総重量、壁重量の低値を認め、抗炎症作用及び抗肉芽作用を明らかにした。さらにクロロキニンの抗アレルギー作用について、石原⁷⁾は磷酸クロロキニンがモルモットのアレルギー性皮膚反応を抑制することを報告し、また加藤^ら⁹⁾は磷酸クロロキニンが家兎の Arthus 現象を抑制し、毛細血管透過性亢進を抑制してアレルギー成因による炎症反応に対し抑制効果を有することを明らかにした。

従来薬剤の抗炎症作用は各種起炎物質による炎症性浮腫に対する抑制効果及び実験的肉芽腫に対する抑制効果を検する方法が広く利用されて来た。特にラット後足の各種起炎物質による炎症性浮腫に対する抑制効果を検する方法は同一のラットで左右両足に同程度の浮腫を発生させることが出来るため、一側の足を対照にし、被検薬物投与後他側の足における浮腫の程度を比較することにより個体差を除外することが出来る他、その結果を数量的に表現出来る利点がある。しかしヒスタミン、セロトニン、デキストランあるいはホルマリン等の化学物質の作用因子には相違があるため¹⁴⁾、ある物質による浮腫に対して抑制効果を示す薬剤が他の物質による浮腫に対

しては無効である場合があり、また臨床的には縁の遠い原因による炎症性変化について、しかも治療用量をはるかに越えた大量の薬剤の影響を観察すると云つた不合理な点が少なくなつた。さらに単に炎症性変化を起し得る物質と云うだけの意味で用いられて来たデキストランやホルマリン等の化学物質による浮腫を臨床的な炎症の代用として単純に考えることには問題があり、臨床的な炎症のすべてがそうでないにしても、可成り多くの場合に共通すると考えられるアレルギー成因による炎症を対象として考える必要があることは言うまでもない。殊にクロロキニンの如くエリテマトーデス、関節リウマチ、さらに気管支喘息等に効果の認められている薬剤についてはアレルギー性炎症を抜きにしてその抗炎症効果の検討を行なうことは意味がない。このような理由から私はクロロキニンの抗炎症効果の検定に当り、ヒスタミン、セロトニンあるいはデキストランによる浮腫の他に抗血清によるアレルギー成因にもとづく炎症性浮腫について抗炎症作用の検討を行なつた。また薬剤の抗アレルギー作用の検定方法としては Schultz-Dale 法による腸管反応の抑制効果あるいは Arthus 現象の抑制効果が検討されて来たが、Schultz-Dale 法では摘出臓器に対する薬剤の影響を検するため、その結果を生体におけるアレルギー性反応にそのままあてはめることは出来ない。これに対して生体のアレルギー性反応に及ぼす薬剤の影響を検する目的で Arthus 現象の抑制効果が検討されて来た訳であるが、私は Arthus 現象とは比較にならぬほどの僅かな抗原抗体反応によつて惹起される非常に敏感な反応である PCA を用いて、さらにクロロキニンの抗アレルギー作用の検討を行なつた。PCA はまず抗体を動物の皮内に注射して受動的に感作し、抗体が局所皮膚細胞に固定されるまで適当の間隔をおき、次に抗原を色素液と共に静脈内に注射して惹起される極めて感度の高いアレルギー性反応であるが、さらに皮膚に固定された抗体と血液中に導入された抗原との反応の強さを抗体注射部位における色素の蓄積面積によつて客観的に判定することが出来る。また PCA にみられる充血、出血、浮腫等の組織の炎症反応は抗原抗体反応の結果遊離されるヒスタミンあるいは類似活性物質による毛細血管透過性亢進を主要とするものであるが、さらに PCA においては炎症反応が色素の血管外漏出を促すだけでなく、血管内皮細胞の表面に沈着した色素が内皮細胞内に貪喰されて時間の経過とともに血管外に脱出し、

次いで組織細胞に摂取され、可成り長く組織に滞留することが知られている¹⁵⁾。

ところで生体における局所炎症反応の惹起にはヒスタミンあるいはヒスタミン様物質の関与が知られているが、さらに局所のアレルギー性反応の発来機構については、抗原抗体反応の結果、細胞の損傷によりヒスタミンあるいはセロトニンの他にアセチルコリン、ブラジキニン、ヘパリン等の化学的微量活性物質が異常に動員され、毛細血管透過性亢進、浮腫あるいは浸潤等の一連の現象が惹起されて複雑な炎症性組織反応が表現されるものと解されている¹⁴⁾。このような観点から私はクロロキンの薬理作用について、先ずヒスタミンあるいはセロトニンに対する作用を明らかにし、続いて各種化学物質による炎症に対する態度に検討を加え、さらに多くの臨床的炎症に共通すると考えられるアレルギー成因による炎症に対する効果について検討を行なった結果、抗ヒスタミン作用、抗炎症作用及び抗アレルギー作用を明らかにすることが出来た。特に臨床的見地から見て重要な形式の炎症病態はアレルギー成因によるものと考えられるが、さらにアレルギー性疾患においては、その発症のものが抗原抗体反応にあるとしても極めて微弱な抗原抗体による鋭敏な反応であると考えられることから、抗血清による炎症性浮腫の他、PCAにおいてクロロキンの抗炎症、抗アレルギー作用を認めることが出来たことは意義あることと考えられる。また炎症性組織反応に関与する微量活性物質の種類や割合については種属あるいは器官による特異性が知られていて¹⁴⁾、以上の実験成績からクロロキンの抗セロトニン作用を認めることが出来なかつたからと言って、クロロキンの抗炎症、抗アレルギー作用についてヒスタミン以外の微量活性物質の関与を否定することは出来ない。前述の如く生体のアレルギー性組織反応はヒスタミン以外に類似の活性物質を含む総合的な刺激に対する血管反応を主要とするものであるから、抗血清による炎症性浮腫及びPCAに対するクロロキンの抑制効果はクロロキンが複雑な起炎性因子を含むアレルギー性炎症において抗炎症、抗アレルギー作用を有することを示したものであり、ヒスタミン以外に炎症反応に加担する類似活性物質に対しても阻止的に働く可能性を示したものである。一方Haberlandら⁸⁾はクロロキンの抗体不活性化作用を明らかにし、またPCAの如くクロロキンは受動的すなわち予め産生された抗体を導入した場合の抗原抗体反応にも有効

であつた所見から、クロロキンの抗アレルギー作用に関して抗原抗体反応の干渉作用も考慮されねばならないが、クロロキンが摘出臓器において低濃度でヒスタミンに拮抗作用を示したことから、あるいは生体において細胞の膜透過性変化を伴うPCAに対して著明な防禦効果を示したことから、クロロキンの抗炎症、抗アレルギー作用についてヒスタミンを含めた類似活性物質の遊離阻止及び対血管作用が考えられるが、さらに細胞レベルにおける作用機構として細胞膜に対する特殊作用すなわち膜安定効果の如きものを想像することが出来る。

私は前編においてクロロキンを気管支喘息の治療に応用し、長期に亘り多数の本症患者について詳細な検討を行なった結果、従来の治療法に比し可成り優れた成績を得ることが出来た。気管支喘息に対するクロロキン療法は従来の対症療法と異なり、また特異的療法あるいは非特異的減感作療法とも趣を異にした長期に亘る経口投与療法であり、本症の根治を目的とした新しい試みであると考えられる。

ところで気管支喘息の成因については従来諸説があり、近年では本症のアレルギー機作の解明からアレルギー性喘息に多大の関心が向けられているが¹⁶⁾、現在のところ本症には一定の遺伝的、体質的因子が素因として存在し、さらにアレルギー、感染、自律神経失調、内分泌異常、心因、適応失調等の諸種の外因性あるいは内因性の病因が関与することにより喘息発作が種々の形で発症するものと考えられる。いずれにしても喘息発作を来す病理的基盤は気管支壁粘膜の腫脹、気管支内腔の分泌液の貯留及び気管支平滑筋の攣縮による末梢気管支の広範な狭窄ないし閉塞であり、また剖検上、気管支粘膜及び粘膜下組織の浮腫、浸潤及び気管支基底膜、筋層及び同血管壁の変性、肥厚、さらに慢性化するにしがたい肺線維化等の変化が認められている¹⁶⁾。

気管支喘息に対するキノリン誘導体の作用機序について、本症の治療にPhthalamaquineを応用したGeschickter¹⁷⁾はかかる薬剤が呼吸組織に濃厚に分布し、気管の組織を調整することが重要であると述べ、さらに抗ヒスタミン作用、抗アセチルコリン作用及び気管支拡張作用を有することを指摘した。また同じく磷酸クロロキンを気管支喘息の治療に応用したKrammer¹⁸⁾はクロロキンの体質改善的要素に注目しているが、勿論これのみをもつて本症に対する作用機序のすべてを説明することは困難である。私はクロロキンの薬理作用について抗ヒスタミン作

用、抗炎症作用及び抗アレルギー作用を認めることが出来たが、さらに前編においてクロロキンの長期経口投与療法を行なった気管支喘息患者の血漿及び剖検例の諸臓器についてクロロキンの定量を行ない、本療法における血漿中クロロキン濃度がほぼ一定の値を維持し、肝、脾、肺の順に諸臓器内に分布することを明らかにすることが出来た。従つて気管支喘息に対するクロロキンの作用機序について、クロロキンが肺に高濃度に分布し、呼吸組織において抗ヒスタミン作用、抗アセチルコリン作用、平滑筋弛緩作用及び抗炎症作用、抗アレルギー作用、さらに線維芽細胞抑制作用等を有することが考えられる。一方内分泌系殊に下垂体副腎皮質系との関連については、臨床的にもクロロキンと副腎皮質ホルモンとの間には往々相違がみられることから同一の作用機構とは考えられないが、奏効疾患の共通性から何らかの関連性が窺われる。また自律神経失調あるいは間脳を介した肺の副交感神経の異常緊張による換気機能の異常及び粘膜、血管の異常反応の調整に以上の薬理作用が関与し得る可能性も考えられる。さらに現在のところ遺伝的、体質的素因との関係を説明することは出来ないが、抗体不活性化作用は重要であり、本療法における体質改善的要素を推察することが出来る。すなわち気管支喘息に対するクロロキンの作用機序について、以上の薬理作用及び体内分布から完全な説明は困難であるが、本療法において、本症の成因及び種々の病理学的変化に対して以上の薬理作用のすべてが関与することにより本症を軽快に導くものと考えられ、特に抗ヒスタミン作用、抗炎症作用、抗アレルギー作用等の薬理作用は本症に対する作用機序として重視すべきものと考えられる。

V 結 語

1. 気管支喘息に対するクロロキンの作用機序を

解明する目的で、モルモットの摘出腸管、ラット後足の炎症性浮腫及びモルモットの受動性皮膚過敏症によりクロロキンの抗ヒスタミン作用、抗セロトニン作用、抗炎症作用及び抗アレルギー作用について実験的検討を行なった。

2. 先ずモルモットの摘出腸管においてクロロキンはセロトニンによる腸管収縮に影響を与えず、抗セロトニン作用を認めることは出来なかつたが、ヒスタミンによる腸管収縮に対して拮抗作用を示し、抗ヒスタミン作用を認めることが出来た。

3. 次にラット後足の炎症性浮腫においてクロロキンはセロトニン浮腫及びアキストラン浮腫に対して抑制効果を示さなかつたが、ヒスタミン浮腫に対して抑制効果を示し、また抗血清によるアレルギー性炎症に起因する浮腫に対しても同様に抑制効果を示し、抗炎症作用を認めることが出来た。

4. さらにモルモットの PCA においてクロロキンは着色面積、着色強度及び炎症反応強度について抑制効果を示し、抗アレルギー作用を認めることが出来た。

5. 以上実験的に明らかにすることが出来たクロロキンの抗ヒスタミン作用、抗炎症作用、抗アレルギー作用等の薬理作用は平滑筋弛緩作用、線維芽細胞抑制作用、抗体不活性化作用あるいは体質改善的要素とともに気管支喘息に対するクロロキンの作用機序として重視すべきものと考えられる。

擱筆に臨み御指導、御校閲を賜つた恩師平木潔教授に深甚の謝意を表するとともに、終始御懇篤なる御指導を賜つた木村郁郎講師に深謝します。

【本論文の要旨は第12回日本アレルギー学会総会において発表した。】

主 要 文 献

- 1) Andersag, H. et al.: Zur Entwicklung des Malaria-Heilmittels, *Medicine und Chemie*, 5, 168~173, 1956.
- 2) Kikuth, W. et al.: Die Chemotherapie der Malaria. Hirzel, Leipzig. 1944, 2, Aufl.
- 3) Fu, H. F. and Ma, K. C.: Chloroquine in the treatment of clonorchiasis, *Chinese M. J.*, 71, 135~138, 1953.
- 4) 木村郁郎他: 若菜病に対する新治療法の提唱—磷酸クロロキン(レゾヒン)療法を中心として—, *総合臨床*, 8, 796~803, 1959.
- 5) Goldman, L. et al.: Chloroquine diphosphate in treatment of discoid lupus erythematosus, *J. A. M. A.*, 152, 1428~1429, 1953.
- 6) Haydu, G. G.: Rheumatoid arthritis therapy: A rational and the use of chloroquine diphos-

- phate, *Am. J. M. Sc.*, 255, 71~75, 1953.
- 7) 石原 勝：抗マラリヤ剤 Chloroquine の諸種皮膚疾患に対する治療効果並びにその作用機序について，日本皮膚科学会雑誌，69, 132~146, 1959.
 - 8) Haberland, G. L. et al.: *Pharmakologische Untersuchungen zur Wirkungsweise von Antiphillogistika*, *Zeitschr. f. Rheumaforschung*, 18, 220~232, 1959.
 - 9) 加藤浩志他：抗リウマチ剤 Resochin の臨床効果並びにその作用機序，診断と治療，49, 1411~1417, 1961.
 - 10) 宇田昭夫：Guaiazulene はか二，三抗炎症性薬物の炎症性浮腫にたいする抑制作用態度，日本薬理学雑誌，56, 1151~1163, 1960.
 - 11) 山崎英正他：Lumisantonin 誘導体の薬理，特に抗炎症作用と Histamine 遊離抑制作用，日本薬理学雑誌，56, 1249~1262, 1960.
 - 12) 木村郁郎他：キノリン誘導体の消化器系に及ぼす影響（第一報），日本消化器病学会雑誌，60, 918~919, 1963.
 - 13) 木村郁郎他：慢性肝障害におけるクロキン療法的作用機序について，日本消化器病学会雑誌，60, 79, 1963.
 - 14) 山崎英正：アナフィラキシー組織反応における Mediators の役割，アレルギー，10, 19~32, 1961.
 - 15) 齊藤昭昭：皮膚血管内皮の Granulocyte 及び色素透過性に対する Histamin 及び Histamin 遊離物質の作用，日本薬理学雑誌，54, 1268~1281, 1958.
 - 16) 川上保雄：気管支喘息の成立とアレルギー，胸部疾患，6, 1091~1100, 1962.
 - 17) Geschickter, C. F.: *Quinoline therapy in asthma*, *Southern Medical J.*, 48, 497~509, 1955.
 - 18) Krammer, H.: *Asthmabehandlung mit Resochin*, *Med. Welt*., 9, 480~481, 1960.

Studies on Treatment of Bronchial Asthma with Chloroquine and its Pharmacological Actions

Part. 2. Studies on Mechanism of Action of Chloroquine in Treatment of Bronchial Asthma

By

Yoshiaki Moritani

Postgraduate School of Medicine, Okayama University
(Director: Prof. K. Hiraki)

In order to clarify the mechanism of action of chloroquine, pharmacological actions of the drug were studied in the resected intestine of guinea pig, inflammatory edema caused on the paw of rat and passive cutaneous anaphylaxis in guinea pig.

1) In the study of the resected intestine of guinea pig, anti-histamine action of chloroquine was noted by showing that the drug had complete antagonistic action against the intestinal contraction caused by histamine administration. While chloroquine did not show anti-serotonine action; contraction of the intestine by serotonin was not influenced at all by the drug administration.

2) In the study of making inflammatory edema on the paw of rat, chloroquine showed inhibitory effect to the edema caused by histamine administration. However, the drug showed scarcely inhibitory effect to the serotonin and dextran edema. Other signs of anti-inflammatory effect of chloroquine was demonstrated by such finding that remarkable anti-inflammatory inhibition was revealed by the drug administration to the edema caused by anti-serum allergic

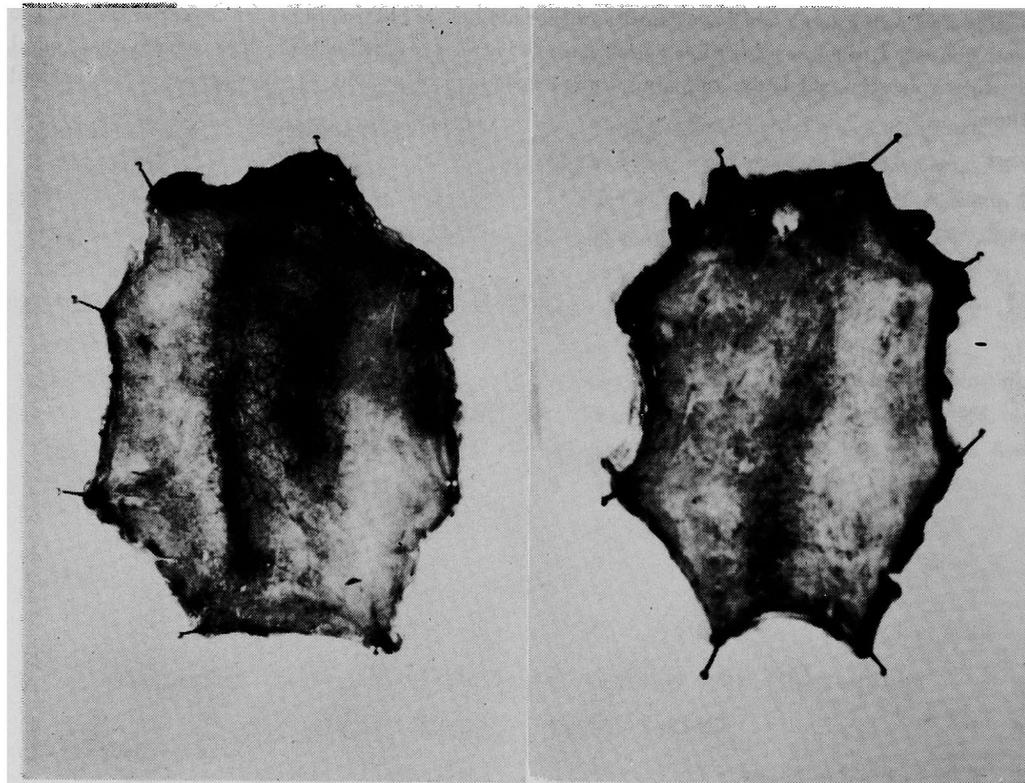
inflammation.

3) Furthermore, chloroquine showed marked anti-allergic action on passive cutaneous anaphylaxis of guinea pig.

Above mentioned pharmacological actions of chloroquine such as anti-histamine, anti-inflammatory and anti-allergic action as well as other actions of chloroquine such as relaxation of the smooth muscle, fibroblast-inhibiting action, inactivity of the antibody or improvement of general constitution are thought to be very important mechanism of actions to the treatment of bronchial asthma.

守 谷 論 文 附 図

写真1 モルモットの受働性皮膚過敏症に対するクロロキンの効果



対 照

磷酸クロロキン 100 mg/kg 腹腔内投与