

臨床利用部門

教授 浜崎 智仁 (医学博士)

助手 長澤 哲郎 (薬学博士)

研究目的

当部門では責任者の浜崎が平成9年6月に着任したため、9年度は本格的活動のための準備期間となった。当部門は天然薬物を実際にヒトに応用した場合の効果を検討することを最終目的として、次の4つに焦点を当てている。

1. ドコサヘキサエン酸 (DHA) の効果と DHA の静注用エマルジョンによる Adult respiratory distress syndrome (ARDS) の予防治療
2. ミード酸 (アラキドン酸の ω 9 型アナログ, 20:3) の抗炎症作用
3. 和漢薬の血漿フィブリノーゲンを低下させる方剤のスクリーニング
4. イソフラボノイドを用いた抗酒研究

研究の概要

1. 医学部学生 (4年生) に被験者になってもらい、12月末から3月初めの期末テスト期の9週間に、二重盲検法で DHA 1.5 g か プラセーボを服用してもらい、75 g 糖負荷試験 (OGTT) と血中カテコールアミン、コーチゾル等を9週間の投与期間の前後で測定した。期末テスト準備のストレスにより、75 g OGTT では全般に血糖が上昇していたが、DHA 群でもプラセーボ群でも前後で大きな差は見られなかった。また

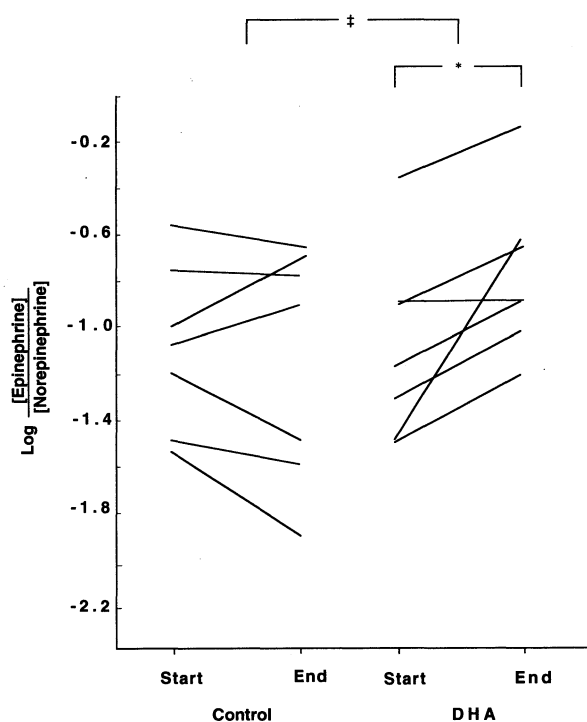


図1. 血漿中エピネフリン/ノルエピネフリン比の変化
被験者は DHA (1.5 g/日) あるいはプラセーボのカプセルを9週間服用し、前後で採血した。投与期間の9週間は期末試験期間中のため、各被験者には同一で、しかもかなりのストレスがあったと思われる。DHA 群では全員でエピネフリン/ノルエピネフリン比が上昇していた。
 $P < 0.02$, $P < 0.03$

表 1 Cell counts of bronchoalveolar lavage fluids and ovalbumin specific serum IgE titers

Group	Total cell count ($\times 10^5$)	Differential cell count ($\times 10^5$)			OVA-specific IgE (U/ml)
		Macrophage (%)	Lymphocyte (%)	Eosinophil (%)	
Saline (n=6)	22.7 \pm 3.5	4.72 \pm 0.84 (21.3 \pm 5.3)	0.86 \pm 0.26 (3.8 \pm 0.9)	17.2 \pm 3.8 (74.9 \pm 5.8)	236 \pm 124
DHA (n=7)	13.4 \pm 2.0*	6.11 \pm 2.10 (45.5 \pm 13.0†)	0.47 \pm 0.11§ (3.6 \pm 1.0)	6.8 \pm 2.2* (50.9 \pm 13.5†)	207 \pm 108
Soybean oil (n=6)	22.2 \pm 2.1	3.66 \pm 0.37 (16.4 \pm 1.8)	0.80 \pm 0.12 (3.6 \pm 0.6)	17.8 \pm 2.0 (80.0 \pm 2.8)	194 \pm 105

Primed mice in the three differently treated groups were challenged by OVA exposure on days 15-17. Cells in BALF and specific IgE titers were measured on day 18. The percentage of each cell type is shown in parentheses. *P<0.001; †P<0.01; §P<0.02 (significantly different from both saline and soybean oil groups).

古典的なストレスホルモンであるコーチゾルも両群で全く差が見られなかった。しかし図 1 に見られるように、[Epinephrine]/[Norepinephrine] 比はプラセボ群では平均すると変化はなかったが、DHA 群では全員で上昇していた。同比は 70 歳の男性では高いヒトの方が死にくいことが知られているため、ストレス時に対し、DHA の服用は有用と思われる。尚この DHA の抗ストレス作用を利用すれば、タバコの禁断症状を軽減できるとの仮説に基づき、現在禁煙研究 (二重盲検試験) が進行中である。

DHA の静注可能なエマルジョンを用い、マウスのアレルギー性肺炎モデル (オボアルブミンの吸入によるアレルギー) に対する効果を検討した。DHA の投与法はエマルジョンをエアロゾルにして吸入させた。この方法により DHA 直接肺へ送り込むことができ、組織での DHA 濃度を急激に上昇させることができる。結果は表 1 のように、DHA を前もって吸入させておいたマウスでの気管支肺胞洗浄液 (BALF) の細胞成分が抑制されており、アレルギー性肺炎や ARDS に利用できると思われる。

2. ミード酸はアラキドン酸欠乏時に体内で合成される二重結合が 3 つしかないアナログであり、ロイコトリエン B₄ 産生を抑制することから、抗炎症作用を有することがわかり始めてきた。上記のアレルギー性肺炎モデルに対して、ミード酸が約 0.3% 含まれたエサでマウスを飼育することにより、BALF 中の細胞成分が変化するかを現在検討中である。

3. フィブリノーゲンは動脈硬化発症の初期の段階から最終段階 (血栓) まで、大きな影響をあたえており、その影響はコレステロールよりよほど重要である。しかし現在まで、血清での検査が主流であったため、フィブリノーゲンの重要性はあまり検討されていなかった。そこで、フィブノーゲン値を抑制する漢方方剤を現在スクリーニング中である。

4. 現在米国でイソフラボノイドを利用した抗酒薬の研究が精力的に行われているが、全てハムスターやラットを用いたものであり、しかも経口投与実験はまだ数えるほどしかない。そこでアルコール依存症患者に二重盲検法で確認することを目的に、まずラット及びハムスターにイソフラボノイドの粗抽出物を投与する準備を進めている。現在、ハムスターが two-bottle 法で 10% エタノール水をよく飲む (ほとんどアルコール水しか飲まないのんべえ) ことが確認されたところである。

◇ 原 著

1) **The effects of infusion of triicosapentaenoyl-glycerol emulsion on extravascular lung water during myocardial ischemia and reperfusion in dogs**

T. Izuoka, Y. Kimura, T. Hamazaki, T. Tamura, S. Kitashiro, T. Sugiura, T. Jikuhara, and T. Iwasaka. *Lipids*, 32 : 109-114, 1997.

Abstract : To test the effects of eicosapentaenoic acid (EPA) infusion on pulmonary edema induced by coronary ligation and reperfusion, extravascular lung water (EVLW) was measured in situ by the thermal-dye double indicator dilution method in dogs. In the control group of five dogs, 30 mL of a 10 % soybean oil emulsion was infused through a leg vein. One hour after infusion, the left anterior descending coronary artery below the first diagonal branch was ligated for 15 min and then reperfused for 30 min. In the EPA group, six dogs were similarly treated with an emulsion of a 10 % triicosapentaenoyl-glycerol (90 % pure). EVLW, pulmonary capillary wedge pressure, mean pulmonary artery pressure, mean blood pressure, and cardiac index were measured before and 15 min after coronary ligation, and 15 min and 30 min after coronary reperfusion. There were no significant differences in the hemodynamic indices between the two groups. EVLW significantly increased up to two times of baseline during coronary ligation in the control group ($P < 0.05$) and more during reperfusion ($P < 0.01$), whereas EVLW did not increase in the EPA group. In conclusion, EPA inhibited EVLW accumulation and may be useful for ameliorating one of the ischemia-reperfusion-induced complications, pulmonary edema.

2) **Involvement of descending serotonergic system in antinociception elicited by Kei-Kyo-Zoh-Soh-Oh-Shin-Bu-toh in rats**

S. Ueda, T. Nagasawa, M. Satoh and Y. Kuraiishi. *J. Trad. Med.*, 14 : 114-120, 1997.

Abstract : To confirm the involvement of descending serotonergic system in the analgesic action of the Kampo medicine Kei-Kyo-Zoh-Soh-Oh-Shin-Bu-toh (桂姜棗草黄辛附湯; TJ-8023), we examined the effects of intrathecal injections of serotonergic

or adrenergic receptor antagonists and a serotonin precursor on the antinociceptive effect of this medicine, using rats with hyperalgesia induced by repeated cold stress. When perorally administered, TJ-8023 (300 mg/kg) produced an apparent inhibition of the hyperalgesia. An intrathecal injection of the serotonin receptor antagonist methysergide (3, 10 and 30 nmol/rat) produced a dose-dependent suppression of the TJ-8023 antinociception. An intrathecal injection of other serotonergic antagonists, cyproheptadine and methiothepin, at a dose of 3 nmol/rat abolished the TJ-8023 antinociception. An intrathecal injection of the serotonin precursor 5-hydroxytryptophan (10 nmol/rat) with an inactive peroral dose of TJ-8023 (300 mg/kg) produced an apparent antinociception. An intrathecal injection of the α -adrenoceptor antagonist phentolamine (30 and 100 nmol/rat) did not significantly affect the antinociceptive effect of peroral TJ-8023 (300 mg/kg). The present results suggest the involvement of serotonergic nerve terminals and serotonin 5-HT, and/or 5-HT₂ receptors in the spinal cord, probably in the spinal dorsal horn, in the TJ-8023 antinociception and support the idea that this antinociceptive effect is at least partly mediated by the descending serotonergic systems.

◇ 著 書

- 1) 浜崎智仁：ヒトの行動（特に敵意性）と脂質。「脳の働きと脂質」奥山治美，安藤進編（脂質栄養シリーズ1），73-92，学会出版センター，東京，1997.
- 2) 浜崎智仁：危ない健康食品，効かない健康食品。エール出版，東京，1997.

◇ 総 説

- 1) 浜崎智仁：薬剤疫学と有効性評価—Statin 類について—。ファルマシア，33 : 177-182, 1997.

Statin 類とは HMG-CoA 還元酵素阻害薬の総称で，コレステロール合成を律速段階で抑制する薬剤である。種々の二重盲検試験でその有効性が証明され，今や世界中で爆発的に売り上げを伸ばしている。ここまで Statin 類が伸びたのは，血清コレステロールがよく低下し，当初心配されていたほど副作用の黄紋筋融解症が多くないとわかってきたためだろう。一言で言えば，使いやすいのである。

さて現在日本で主に使用されている2種のStatin類, simvastatin と pravastatin について, 大規模な二次予防試験 (Scandinavian Symvastatin Survival Study : 4S) と一次予防試験 (West of Scotland Study : WOS) がそれぞれ発表されているので, それらについて薬剤疫学的評価を試みた。

- 2) 澤崎茂樹, 浜崎智仁 : EPA の生化学. 喘息 10 (3) : 45-51, 1997.
- 3) 浜崎智仁 : 癌予防と油脂の役割. FOOD STYLE21. 1 : 30-33, 1997.
- 4) 浜崎智仁 : n-3 系多価不飽和脂肪酸よりみた脂肪の役割. 栄養—評価と治療, 14 : 263-270, 1997.

◇ 学会報告

- 1) T. Hamazaki, S. Sawazaki, E. Asaoka, M. Itomura, K. Yazawa, T. Kuwamori, and M. Kobayashi. : Docosahexaenoic acid-rich fish oil does not affect serum lipid concentrations of normolipidemic young adults. 4th International Congress on Essential Fatty Acids and Eicosanoids, 1997, 7, Edinburgh.

Fish oils, purified eicosapentaenic acid and docosahexaenoic acid (DHA) have been reported to improve blood lipid concentrations, especially those of triglycerides in humans. However, to our knowledge there have been no double-blind studies investigating the effects of DHA-rich fish oil on blood lipid concentrations. Therefore, we conducted a placebo-controlled double-blind study. Twenty-four healthy, normolipidemic young adults took either DHA-rich fish oil capsules containing 1.5-1.8 g of DHA or control oil capsules containing 97 % soybean oil and 3 % fish oil for 13 wk. Blood samples were taken at the start and end of the study, and serum lipids concentrations were compared.

There were no significant changes over time in the DHA group in the following serum lipids: total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, lipoprotein(a), and apolipoproteins A1 and B. In contrast apolipoprotein A1 concentrations slightly (10 %) but significantly increased over time in the control group. Docosahexaenoic acid at a dose of less than 2 g/d did not change serum lipid concentrations of normolipidemic subjects. The effects of DHA in hyperlipidemic patients remain to be investigated in a double-blind study.

- 2) S. Sawazaki, T. Hamazaki, Y. Wada, C. Kanai, K. Kato, A. Adachi, and M. Kobayashi. : Effects of DHA on oral glucose tolerance test (oGTT) and plasma catecholamines. A double-blind study. 4th International Congress on Essential Fatty Acids and Eicosanoids, 1997, 7, Edinburgh.

To assess the effects of DHA on 75 g oGTT and on catecholamines at mental stress, we recruited 15 medical students. They were randomly allocated to either control or DHA group in a double-blind manner. Subjects in the control group (4 males and 4 females) took 10 control capsules containing 300 mg of mixed plant oils each, and those in the DHA group (4 males and 3 females) took 10 DHA capsules containing 1.5 g DHA as a total for 2 months, during which several stressful final exams were set. At the start and end of the study, 75 g oGTT was performed; plasma catecholamines (epinephrine, norepinephrine, and dopamine) and cortisol were also measured as counter hormones. As shown in the table there were no differences in plasma glucose concentrations between the two groups. However, norepinephrine concentrations were signifi-

Table Changes in plasma concentrations of glucose and norepinephrine

Group	Glucose (mM, 75 g oGTT)			Norepinephrine (pg/ml)
	baseline	60min	120min	
Control				
before	5.26±0.27	7.60±1.95	6.37±1.37	327.4±145.4
after	5.20±0.26	7.71±2.23	7.33±1.90	315.4±110.9
DHA				
before	5.16±0.43	8.23±2.29	6.83±0.91	420.8±145.4
after	5.30±0.27	8.20±1.89	6.67±1.07	263.6±84.2*

*p<0.05

cantly reduced after DHA administration. The other catecholamines and cortisol did not change significantly. Although DHA could not change plasma glucose concentrations, the norepinephrine reducing effect of DHA during a stressful period may be applied to stress-related diseases.

3) T. Sakamoto, T. Hamazaki, M. Miyake, S. Doi, M. Morishita and S. Torii.: Effects of intravenous infusion of tridocosahexaenoyl-glycerol emulsion on eosinophil infiltration in rat lung induced by sephadex beads. 4th International Congress on Essential Fatty Acids and Eicosanoids, 1997, 7, Edinburgh.

Eosinophils may play a key role in the pathological changes seen in the asthmatic airway. Sephadex (cross-linked dextran) particles have previously been shown to induce eosinophil infiltration in rat lung when injected intravenously. This lung inflammation model is considered to be useful in studying the cellular mechanisms which contribute to allergic inflammation. We have investigated the effects of docosahexaenoic acid which is a major polyunsaturated fatty acid of fish oil, on the airway response induced by i.v. Sephadex beads. Wistar male rats weighing 280 g were anesthetized with pentobarbital (50 mg/kg i.p.) and administered i.v. injection of 10 % tridocosahexaenoyl-glycerol (DHA-TG) emulsion (0.3, 1, 3 ml/animal), soybean oil emulsion (3 ml/animal) or 0.9 % saline (3 ml/animal), followed 15 min later by i.v. injection of Sephadex beads (G-5 superfine 3.5×10^4 particles/kg). A group of animals pretreated with 0.9 % saline (3 ml/animal i.v.) were challenged with 0.9 % saline (1 ml/animal i.v.), used as sham control. Fourteen hours later, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was collected from the animals anesthetized with an overdose of pentobarbital. Total cell

counts and differential cell counts in BALF were examined. Sephadex heads significantly increased cell counts of eosinophils, neutrophils and lymphocytes, but not of macrophages, in BALF. DHA-TG emulsion dose-dependently inhibited the increases in cell counts eosinophils, neutrophils and lymphocytes: DHA-TG at 3 ml/animal i.v. completely prevented the airway responses. On the other hand, pretreatment with soybean oil emulsion had no effect. Our results suggest that enrichment with docosahexaenoic acid may be of potential benefit in treatment for inflammatory diseases of the lower airways including asthma.

4) A. Yokoyama, T. Hamazaki, A. Ohshita, N. Kohno, K. Sakai, Y. Hirasawa, K. Hiwada, M. Kobayashi. : Effects of aerosolised tridocosahexaenoyl-glycerol emulsion on a murine model of allergic pulmonary inflammation. 4th International Congress on Essential Fatty Acids and Eicosanoids, 1997, 7, Edinburgh.

Objective: To investigate effects of emulsified docosahexaenoyl-glycerol (DHA-TG) on a murine model of ovalbumin (OVA) induced allergic pulmonary inflammation, we took a novel approach to administration, i.e., aerosolised DHA-TG, to optimise its effects on the lung.

Methods: Mice (BALB/c, 6-8 wk old) were primed with OVA and Al(OH)₃ on days 0 and 7, and with aerosolised OVA on day 7. Primed mice were challenged by repeated exposure to aerosolised OVA (50 mg/ml for 20 min, days 15-17). Just before each aerosolised OVA exposure, mice were also exposed to aerosol of emulsified DHA-TG, soybean oil or saline (days 7, 15-17). Bronchoalveolar lavage fluid (BALF; 0.8 ml, 6 times) was obtained at 24 hr after the last challenge (day 18). Lungs were histologically examined.

Table 1. Differential cell counts in BALF for each group

Treatment	n	Cell count ($\times 10^4$)			
		Macrophage	Eosinophil	Neutrophil	Lymphocyte
Saline	5	312.0 \pm 34.2	27.5 \pm 8.0**	8.7 \pm 5.7*	17.1 \pm 3.2**
Soybean oil	7	261.3 \pm 19.2	36.4 \pm 6.4**	32.1 \pm 8.4*	14.4 \pm 1.7**
DHA-TG ^a	6	242.1 \pm 11.0	0.5 \pm 0.3	2.2 \pm 0.6	1.7 \pm 0.4
Sham	5	227.8 \pm 18.3	0.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1	1.9 \pm 0.1

^a3ml/animal i.v. *P<0.05, **P<0.01 vs. sham, Values are means \pm S.E.M.

Results: BALF of this model contained a total cell of $19\text{--}25 \times 10^5$ ($5.5\text{--}6.5 \times 10^5/\text{ml}$) with predominant eosinophils ($\sim 70\%$). Exposure to DHA emulsion significantly reduced the total cell number in BALF ($7.7\text{--}13 \times 10^5$ or $2.2\text{--}3.0 \times 10^5/\text{ml}$). The percent of eosinophils was also reduced to $\sim 55\%$. Exposure to soybean oil did not show any changes. The histological examinations confirmed reduced cell infiltration to the lung by exposure to DHA-TG but not to soybean oil. Conclusions: These results suggest that aerosolised DHA-TG has anti-inflammatory effects on allergic pulmonary inflammation, and that this approach could be applied to humans.

**5) 浜崎智仁：n-3系多価不飽和脂肪酸と動脈硬化。
日本臨床栄養学会，1997，11，札幌。**

グリーンランド先住民に動脈硬化が少ないことから本格的に始まったn-3系多価不飽和脂肪酸(PUFA)の研究は、大規模介入試験でその有効性が証明され、作用機序についてもかなり判明してきた。最近解明された作用機序の中で注目されるものとして、n-3系PUFAと行動との関係がある。以前よりType-A行動パターンは、心筋梗塞の危険因子と見なされていたが、Type-Aの根幹をなす攻撃性(aggression)につき、ドコサヘキサエン酸(DHA, n-3系PUFAの一つ)に制御作用があることが判明してきたので紹介する。この研究はプラセボ付きの二重目かくし法で行われ、学生41名が参加した。ランダムに二群に分け、一群にはDHAを1日1.5~1.8gを投与し(DHAを50%含むDHAカプセルを10~12カプセル服用)、対照群には大豆油97%魚油(魚油臭がありDHAが15%ほど含まれているもの)3%を含む対照カプセルを10~12個を3ヵ月にわたり投与した。投与前後で、Stroopテスト(色識別のストレステスト)、かなひろいテスト(ボケ検出テストの難度を上げたもの)、PFスタディなどを行った。PFスタディとは、ストレスを感じさせる絵を見て、何と答えるかをみる方法で、答え方によって被験者の攻撃性や敵意性を定量化することができる。結果は、Stroopテスト、かなひろいテストには両群で全く差がでなかったが、PFスタディでは、大きな差が出た。投与終了時がちょうど大学のテストシーズンに重なったため、対照群では攻撃性がほぼ全員で上昇したが(35%→44%)、DHA群では平均すると変化はなかった(31%→31%、両群には $p < 0.005$ で有意差あり)。このようにDHAにストレス下での攻撃性安定化作用があり、これがn-3系PUFAの大きな作用機序の一つと考えられる。

6) 浜崎智仁：n-3系脂肪酸の新しい作用機序。合同シンポジウム(農芸化学会、食品科学工学会、栄養・食糧学会、応用糖質科学会の各北海道支部及び北海道農芸化学協会)、1997，11，札幌。

魚油に含まれるn-3系脂肪酸(エイコサペンタエン酸(EPA)やドコサヘキサエン酸(DHA))は動脈硬化の予防・治療に有効と言われているが、有効性をしめす研究法は基本的には介入試験のみである。その点Burrらが実施したDARTは意義深い。彼らは2033名の心筋梗塞を起こした男性で、魚食(魚が食べられない人は魚油カプセルを摂取)、P/S比の上昇あるいは食物繊維の増加の効果を比較試験したところ、P/S比の上昇や食物繊維は何ら効果がなかったのに対し、魚食/魚油群では2年間で総死亡率が29%も低下することがわかった。さらに死亡率を低下させた原因として、心筋梗塞に伴う致死性不整脈(心室細動)を魚食/魚油が予防したと考えられるようになった。魚油には大きく分けて、抗動脈硬化作用、抗炎症作用、神経脳に対する作用等が考えられているが、直接生死に関わる作用として、抗不整脈作用が最近注目されている。Christensenらは心筋梗塞を起こした患者での二重目かくし試験で、魚油群ではEPA+DHAで1日5.2gを、対照群にはオリーブ油を12週間にわたり投与した。投与前後で24時間心電図をとり、正常なR-R間隔の標準偏差を比べたところ、対照群より魚油群の方が増加していることがわかった。R-R間隔は副交感神経により支配されているため、魚油の摂取により副交感神経が優位になったと考えられる。心室細動の予防の観点からは、副交感神経の増強は心室細動の閾値を上げるために都合がよい。さらにSellmayerらによる心室性期外収縮の多発患者での二重目かくし試験によると、EPA/DHAの投与は心室性期外収縮を抑制している。このことは、CAST Studyで判明した最近の抗不整脈薬がむしろ死亡率を上昇させる事実と比較することで、その重要性がより鮮明になる。さて、ここでヒトの行動に対する魚油の影響を考えてみよう。我々は学生ボランティアに参加してもらい二重目かくし試験でDHAの知能や行動に対する影響を検討した。試験に利用した魚油はDHAを50%含むもので、一日3.0~3.6gをカプセルの形で服用してもらった。対照群には大豆油(魚臭をつけるため他の魚油を3%含む)3.0~3.6gを投与した。食事調査によると、参加した学生の一日のDHA摂取量は0.2gとかなり低かった。3ヵ月間の投与の前後で、かなひろいテスト(前頭葉テスト)、Stroopテスト(赤い字で緑と書いたものを緑と読ませたりする)、PFスタディ(心理テ

ト、敵意性を調べる)を行った。結果は、かなひろいテスト、Stroopテストでは両群に全く差がみられなかった。一方、敵意性は対照群で上昇したのに対して、DHA群では変化がなく、両群には高度な有意差がみられた。対照群で敵意性が上昇したのは、この二重目かくし試験の開始時期が夏休みの終り頃でのんびりしており、終了時は重要な学期末試験や卒業試験の直前でストレスが大きかったためと思われる。最近、敵意性症候群という概念がWilliamsにより提唱されており、敵意性の強い人では心筋梗塞や不整脈を起しやすく、癌にもなりやすいとの調査が発表されている。敵意性とは、脳のセロトニン作働性ニューロンの活動低下→交感神経系の過度の興奮→敵意性とつながる。一方、交感神経系の過度の興奮は循環器系の疾患(あるいはその他の疾患)に関連する。そこで“敵意性の抑制”は、もしセロトニン作働性ニューロンの活性化あるいは交感神経系の抑制と関連しているなら、現代病の予防につながりうる重大なキーワードとなる。事実われわれのごく最近のデータによると、ストレス時の血中ノルアドレナリンの上昇は、DHA投与により抑制できることがわかってきた。

7) K. Kitagawa, T. Andoh, T. Nagasawa, M. Satoh, and Y. Kuraishi. : Different effects of antagonists to histamine, and serotonin receptors on itch-related behavior induced by substance P, histamine and serotonin in mice. 第70回日本薬理学会年会, 1997, 3, 千葉. Jpn. J. Pharmacol., 73, Suppl.I, 93p, 1997.

Substance P (SP) is thought to cause an itch sensation through the release of histamine (HS) from mast cells in humans. In contrast to human mast cells, mouse mast cells contain serotonin (5-HT) as well as HS. Therefore, the present study was conducted to determine whether SP-induced itching would be mediated by HS and/or 5-HT in mice. Male ICR mice (5-6 weeks old) were arranged in groups of 8 animals each. They were given an intradermal injection of SP, HS or 5-HT at a dose of 100 nmol/site into the rostral back. For itch-related behavior, scratching of the pruritogen-treated site was counted. Pretreatment with H₁ receptor antagonist, chlorpheniramine, (3-30 mg/kg, p.o.-30 min) produced the dose-dependent inhibition of scratching induced by HS, but not by SP. Pretreatment with the serotonergic and histaminergic antagonist cyproheptadine (3-300 nmol/kg, s.c.-15 min)

inhibited scratching induced by HS and 5-HT, but not by SP. These results suggest that the cutaneous mast cells and their mediators HS and 5-HT do not play an important role in SP-induced itching in mice.

8) 安東嗣修, 倉石 泰, 長澤哲郎: マウスのサブスタンス P 誘発痒み関連行動への一酸化窒素 (NO) の関与と役割. 日本薬学会第117年会, 1997, 3, 東京.

【目的】サブスタンス P (SP) は、ヒトの皮膚に投与すると痒みを引き起こす、我々は、SP をマウスの皮膚に投与すると痒み関連行動 (引っ掻き行動) を惹起し、この行動が NK1 受容体拮抗薬で抑制されることを報告してきた。NK1 受容体は、血管内皮細胞やマクロファージに発現しており、SP によって NO 合成酵素が活性化されこれら細胞から NO が放出される。そこで、SP 誘発痒み関連事項への NO の関与とその役割を検討した。

【方法】ICR 系雄性マウス (5-6 週令) を用いた。SP は、生理食塩水に溶解し、前日に除毛しておいた吻側背部に 0.05 ml の容量で皮内注射した。N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME ; NO synthesis inhibitor), D-NAME, 1-ethyl-2-thiourea (ETU ; NO synthesis inhibitor), methylene blue (MB ; guanylate cyclase inhibitor), hemoglobin (Hb ; NO scavenger) は、生理食塩水に溶解し、SP と同時あるいは、5 min 前に尾静脈内注射した。SP 皮内注射後直ちに、マウスを行動観察用ケージに入れ、その行動を無人環境下にビデオカメラで撮影した。ビデオの再生により、マウスの引っ掻き行動を観察した。

【結果・考察】L-NAME (0.1-10 mg/Kg) あるいは ETU (0.1-10 nmol) の前処置が、SP (100 nmol) 誘発引っ掻き行動を用量依存的に抑制した。D-NAME (0.1-10 mg/Kg) の前処置は、抑制しなかった。Hb (0.01-10 nmol) あるいは MB (0.001-0.1 nmol) の SP (100 nmol) との同時投与は、SP 誘発引っ掻き行動を用量依存的に抑制した。ほとんど効果を示さない用量の SP (10 nmol) と L-arginine (300 nmol) との同時投与は、単独投与時よりもその作用が増強された。以上の結果より、SP 誘発痒み関連行動に NO-cGMP 系が関与しており、NO の役割として SP 誘発引っ掻き行動に対する作用増強であることが示唆される。

9) 北川貫次, 安東嗣修, 長澤哲郎, 倉石 泰: ICR 系マウスにおけるヒスタミン誘発痒み関連行動に対する H1 及び H2 受容体拮抗薬の作用. 第48回日本薬理学会北部会, 1997, 10. 盛岡. 日薬理誌 111

(1), 25p, 1998.

【目的】我々はこれまでに histamine (HS) の皮内注射が ICR 系マウスでは痒み関連行動を惹起するが, ddY 系マウスでは惹起しないことを報告した。今回 6 系統マウスにおいて HS の感受性を検討した。また, ICR 系マウスにおいて HS 誘発痒み関連行動に対する HS 受容体拮抗薬の影響と HS の作用部位について検討を行った。

【方法】実験には雄性マウス (5-6 週令) を用い, 前日に除毛したマウスの吻側背部に HS を 50 μ l の容量で皮内注射した。注射後 60 分間における注射部への後肢による搔き動作を無人環境下にビデオカメラで撮影し, カウントした。HS 受容体拮抗薬は, HS 投与 30 分前に経口投与あるいは, HS または Serotonin と同時に皮内注射した。

【結果・考察】HS (100nmol/site) のマウス吻側背部への皮内注射は, ICR 系マウスにおいてのみ注射部位への搔き動作を惹起し, ddY, BALB/c, C57BL/6, WBB6F1+/+, C3H/He 系では惹起しなかった。HS 誘発搔き動作は chlorpheniramine, terfenadine (3-30 nmol/Kg) の経口投与により有意に抑制されたが, cimetidine (3-30 mg/Kg) の経口投与では抑制されなかった。chlorpheniramine (1-10 nmol/Kg) の同時投与は, HS 誘発搔き動作を有意に抑制したが, serotonin 誘発搔き動作を抑制しなかった。以上の結果から ICR 系マウスにおける HS 誘発性搔き動作惹起作用には, 少なくとも皮膚内の H₁ 受容体が関与していることが示唆される。ICR 系のみ HS に反応する理由は現在のところ不明である。

10) 北川貫次, 安東嗣修, 倉石 泰, 長澤哲郎: 痒み関連行動惹起作用における histamine 感受性のマウス系統差。第 2 回日本ヒスタミン研究会, 1997, 11, 京都。第 2 回日本ヒスタミン研究会抄録集, pp26, 1997.

【目的】histamine は, 古典的な痒みのメディエーターであり, ヒトの皮膚に投与すると痒みを惹起する。また, 蕁麻疹などの痒みは, 肥満細胞から遊離される histamine が重要な役割を演じていると考えられている。ところで, ddY 系マウスの皮膚に compound 48/80 などの起痒物質を注射すると注射部位を搔く動作が惹起されたが, histamine はほとんど搔き動作を惹起しなかった。また, その後の実験から, ICR 系マウスでは histamine も搔き動作を惹起することを見出した。そこで, 本実験では, histamine がマウスにおいて一般的な痒みのメディエーターでありうるか否かを検討する目的で, 種々の系統のマウスを用いて his-

tamine の搔き動作惹起作用を検討した。

【方法】実験には, ICR, ddY, BALB/c, WBB6F1+/+ 及び C3H/He の各系統の雄性マウス (5-6 週令) を用いた。マウスの吻側背部に histamine あるいは serotonin を 50 μ l の容量で皮内注射し, その行動を無人環境下にビデオカメラで撮影した。ビデオの再生により, 搔き動作を観察・記録した。histamine 受容体遮断薬は, histamine 投与の 30 分前に経口投与するか, histamine または serotonin と同時に皮内注射した。

【結果と考察】histamine (100 nmol/site) の皮内注射は, ICR 系マウスには 1 時間に 108 \pm 16 回 (n=8) と明らかな搔き動作を惹起したが, ddY, BALB/c, WBB6F1+/+ 及び C3H/He 系マウスでは, 1 時間の平均搔き回数で 6-18 回と, 生理食塩水投与群と比較して有意な搔き動作惹起作用が観察されなかった。一方, serotonin (100 nmol/site) の皮内注射は, ICR 系マウスにおいて 1 時間に 178 \pm 11 回 (n=8) の搔き動作を惹起し, ddY, BALB/c, WBB6F1+/+ 及び C3H/He 系マウスにおいても, 程度の差はみられるものの明らかな搔き動作が観察された。以上の結果は, histamine に対する反応の系統差が, マウス運動性などの違いによるものではなく, 皮膚における histamine に対する反応性の相違によるものであることと, マウスにおいては histamine が主要な痒みのメディエーターではないことを示唆する。ICR 系マウスにおいて, histamine (100 nmol/site) で誘発される搔き動作が, histamine H₁ 受容体遮断薬, chlorpheniramine (3-30 mg/Kg) 及び terfenadine (3-30 mg/Kg) の経口投与で用量依存的に抑制されたが, histamine H₂ 受容体遮断薬 cimetidine (3-30 mg/Kg) では有意な抑制作用が見られなかった。chlorpheniramine (1-10 nmol/site) の histamine (100 nmol/site) との同時皮内注射は histamine の搔き動作惹起作用を有意に抑制した。同用量の chlorpheniramine が serotonin (100nmol/site) の搔き動作惹起作用は抑制しなかったことから chlorpheniramine の皮内注射による histamine 反応の抑制作用は局所麻酔作用によるものではないと考えられる。したがって, ICR 系マウスにおける histamine の搔き動作惹起作用には, 少なくとも一部皮膚内の H₁ 受容体が関与していることが示唆される。Histamine 反応の系統差が何に起因するか現時点では不明である。この問題に関して, 後根神経節における H₁ 受容体 mRNA の発現量をマウスの系統間で比較中である。