

論文の内容の要旨

論文題目：

ヒト末梢血リンパ球機能における ヒスタミン H1 受容体拮抗薬の作用

指導教官： 森本 幾夫 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成10年4月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名： 程 衛

背景と目的

蕁麻疹やアレルギー性鼻炎に代表されるI型(即時型)アレルギーに於いては、肥満細胞や好塩基球等からヒスタミンが放出され、ヒスタミンH1受容体を介して即時相の反応を引き起こす。ヒスタミンは血管の拡張と透過性の亢進をきたし、炎症部位の発赤、腫脹を惹き起し、神経終末を刺激して痒みや咳、くしゃみ等を誘発する。また、気道や消化管の平滑筋を収縮させて、気道狭窄や下痢を誘発する。

近年の研究により、気管支喘息、アトピー性皮膚炎等の多くのI型アレルギー疾患において、実は慢性的な炎症が病態の中心をなすことが示されている。即時反応に引き続いて起こる慢性的なアレルギー性炎症は、主に局所の肥満細胞から放出されたサイトカインによる好酸球、好中球、リンパ球等の炎症関連細胞群が活性化し、炎症部位に遊走、浸潤することに起因する。即時型アレルギーの炎症の遷延化におけるリンパ球の役割が必要不可欠である。

アレルギー疾患及び自己免疫疾患の病態において、免疫担当細胞の炎症部位への遊走やヘルパーT細胞によるTh1/Th2サイトカイン不均衡が高頻度に認められる。それ故にサイトカイン不均衡の是正及び免疫担当細胞遊走の抑制はアレルギー・自己免疫疾患の治療において極めて重要である。

即時型アレルギーの治療薬として開発されたヒスタミンH1受容体拮抗薬(=H1拮抗薬)は比較的重篤な副作用が少なく、蕁麻疹、アレルギー性鼻炎等のI型アレルギーの治療に標準的に使用されている。最近、H1拮抗薬の抗アレルギー作用として、抗ヒスタミン作用以外に免疫担当細胞にも薬理作用を発揮するものが存在すると報告されているが、詳細な作用機序はまだ究明されていない。

そこで、現在アレルギー疾患に汎用されている長時間作用型H1拮抗薬のエバスチン(商品名エバステル)、エバスチンの代謝物カレバスチン、塩酸エピナスチジン(アレジオン)と塩酸セチリジン(ジルテック)に、コントロールとしてH1拮抗薬の中でH1受容体への親和性の高いフマル酸ケトチフェン(ザジテン)を加え、計5種類のH1拮抗薬を用いて、T細胞及びマクロファージ機能に対するH1拮抗薬の影響を検討した。さらにヒトリンパ球機能におけるH1拮抗薬の影響を比較しつつ、H1拮抗薬の臨床応用における新たな可能性及び作用機序を検討することを目的とした。

方法

代表的なH1拮抗薬(エバスチン、塩酸エピナスチジン、塩酸セチリジン、フマル酸ケトチフェン)及びエバスチンの代謝活性体であるカレバスチンを用いて実験した。報告されている各H1拮抗薬及び代謝活性体の血中濃度を参考に、今回の実験濃度を設定した。また実験使用細胞にて最大濃度で細胞毒性を認めないことを予め確認した。

各実験濃度のH1拮抗薬でコントロール以外の実験用細胞を処理した。健常人末梢血T細胞を、固相化抗体及びPMAを用いた以下の3通りの共刺激(①抗CD3+PMA、②抗CD3+抗CD28、③抗CD3+抗CD26)で各H1拮抗薬存在下・非存在下で培養し、³H-サイミジンの取り込みによる共刺激下T細胞増殖及びT細胞のサイトカイン産生を検討した。また、H1拮抗薬のLPS刺激マクロファージからのサイトカイン産生への影響も検討した。さらに、H1拮抗薬のPHA刺激T細胞におけるboyden-chamber法による経内皮的トランスマイグレーションアッセイ及びフローサイトメトリーを用いた免疫蛍光法による細胞表

面接着分子の発現レベル、ウェスタンプロット法による $\beta 1$ インテグリン分子架橋後の細胞内シグナル蛋白質のチロシンリン酸化への影響も検討した。

結果

エバスチンは用量依存的に共刺激による活性化 T 細胞の増殖、Th2 サイトカイン (IL-4, IL-5) 產生、T 細胞及び LPS 刺激下のマクロファージの炎症性サイトカイン (TNF- α 、IL-6) 產生を抑制した。また、エバスチンは、PHA 刺激活性化 T 細胞表面上の共刺激分子の CD26 や接着分子である CD29、CD47 の発現レベルを抑制し、活性化 T 細胞遊走を抑制した。さらにエバスチンは細胞増殖、サイトカイン產生、細胞接着、細胞遊走等の様々な生物学的機能を持つ $\beta 1$ インテグリン下流のシグナル伝達分子である Cas-L のチロシン磷酸化も抑制した。

エバスチンの活性代謝体であるカレバスチンも量は多いものの、エバスチンと同様、サイトカイン產生、細胞遊走等の抑制効果を示した。

塩酸エピナスチンは用量依存的に共刺激による T 細胞の増殖、Th1 サイトカイン (IL-2, INF- γ) 及び Th2 サイトカイン (IL-4, IL-5) 產生を抑制したが、IL-6、TNF- α 等の炎症性サイトカイン產生や PHA 刺激による活性化 T 細胞の遊走能に対しては影響を及ぼさなかった。

一方塩酸セチリジン、フマル酸ケトチフェンは共に共刺激による T 細胞の増殖、サイトカイン产生、PHA 刺激による活性化 T 細胞の遊走能に対して全く影響を及ぼさなかった。

考察と結論

H1拮抗薬の抗アレルギー作用は抗ヒスタミン作用によるものとされていたが、今回の研究により、エバスチン、塩酸エピナスチン等の一部の H1 拮抗薬は T 細胞・マクロファージ機能に対する抑制作用が認められ、免疫細胞への新たな作用機序が示唆された。

エバスチンの抗アレルギー作用は、ヒスタミン拮抗作用以外に、Th2 サイトカイン产生抑制・炎症性サイトカイン产生抑制・T 細胞遊走能の抑制という、炎症を引き起こし、或いは遷延化させるのに重要な種々の免疫応答を抑制する事に由来する可能性が考えられた。さらに、塩酸エピナスチンの抗アレルギー作用は、ヒスタミン拮抗作用以外に Th1、Th2 型両サイトカイン产生抑制も関与する可能性が示唆された。

今回の研究で用いたH1拮抗薬の中で、フマル酸ケトチフェンはH1受容体への親和性及び拮抗作用は最も強い薬剤であったが、フマル酸ケトチフェンにおいて、T細胞、マクロファージへの影響が認められなかった。このことから、H1拮抗薬の免疫細胞への作用はH1受容体における抗ヒスタミン作用とは別に、H1受容体を介さない作用である可能性が示唆された。

近年、ヒスタミンはアレルギー・炎症の調節に深く関わっている事実が報告されて来ている。マウスT細胞上にはH1、H2が存在し、ヒスタミンはH1を介しTh1サイトカイン産生を増強し、H2を介しTh1、Th2両方のサイトカイン産生を抑制するという仮説が提唱された。さらに、多くのヒスタミン拮抗薬がまたinverse agonismであると報告されている。

H1拮抗薬はH1受容体への結合より少ないながらもH2受容体へも結合する。ヒトT細胞におけるヒスタミン受容体が主としてH2である。今回の研究結果では、H1受容体に対する特異性が相対的に低いH1拮抗薬であるエバスチンと塩酸エピナスチンの方にはT細胞への影響が認められたのは、ヒトT細胞のH2受容体に作用したことが関与すると推測される。マウス実験で認められたT細胞上のH2受容体の刺激によるサイトカイン産生抑制はヒトT細胞上でも同じような結果が起こり得ると考えられる。

今回の研究により、一部のH1拮抗薬はリンパ球、マクロファージ等の免疫細胞に対し抑制作用を持つことが明らかとなった。今後さらに、H1拮抗薬のリンパ球、マクロファージ等の免疫細胞に対する厳密な作用機序は検討されるべきである。臨床的には、既に使用してきたアレルギー性の慢性炎症に対してより効果的なH1拮抗薬の選択ができるであろう。また、自己免疫機序に基づく炎症等に対し、H1拮抗薬の新しい使い方の可能性も今後検討されるであろう。