

Amlexanox のモルモット実験的鼻アレルギーに対する効果

三重大学医学部耳鼻咽喉科

鵜飼幸太郎 湯田厚司 野々山勉 坂倉康夫

武田薬品工業株式会社研究開発本部・生物研究所

芦田康子

amlexanox 経口投与によるモルモットの実験的鼻アレルギーに対する抑制作用を検討した。卵白アルブミンを抗原として感作したモルモットは抗原誘発により、対照群に比較して鼻汁中への漏出色素量とヒスタミン含量増加及び鼻腔抵抗値の上昇がみられた。

amlexanox 20及び60mg/kg/day の3週間連続経口投与は、抗原誘発後の漏出色素量とヒスタミン含量増加及び鼻腔抵抗上昇を用量依存的に有意に抑制した。

以上の結果から、抗アレルギー剤 amlexanox の経口投与での鼻アレルギーに対する有用性が示唆された。

Key words: allergic rhinitis — amlexanox — dye leakage — guinea pig — histamine release — nasal resistance

緒言

実験方法

amlexanox はラット及びモルモットの実験的アレルギー性喘息を顕著に抑制し¹⁾、かつ臨床的にも気管支喘息²⁾³⁾及び鼻アレルギー⁴⁾に対して有用性が報告されている。その作用機序は主に肥満細胞及び好塩基性白血球からのヒスタミン遊離抑制に基づくことが報告されている⁵⁾⁶⁾。さらに amlexanox はヒト及びモルモット肺切片からのヒスタミンのみならず、ペプチドロイコトリエンの生成遊離を抑制すること⁷⁾⁸⁾、及びロイコトリエン拮抗作用を有すること⁹⁾も報告されている。

一方、鼻アレルギーにおいて、抗原抗体反応に基づく肥満細胞から遊離される chemical mediator は、鼻アレルギー症状の発症に深く関与していると考えられている。これら chemical mediator の遊離を抑制する amlexanox の、モルモットでの IgE が関与する実験的鼻アレルギーに対する作用を検討したので報告する。

1. 動物：雄性 Hartley 系 モルモット（体重 350～400g, 静岡実験動物農業共同組合）を用いた。

2. 薬物：卵白アルブミン（Sigma Grade III）、pontamine sky blue（東京化成）、sodium pentobarbital（ソムペンチル, Pitman-Moore）及び amlexanox（武田薬品）を使用した。

3. 鼻アレルギーモデル：モルモットの IgE 感作は寺田らの方法⁹⁾に従い、卵白アルブミン 20 μ g および水酸化アルミニウムゲル 10mg から成る懸濁液 1ml を2週間に1回、合計6回腹腔内投与し感作した。その2週間後 0.01% 卵白アルブミン生理食塩液 3ml を1日1回5日間超音波ネブライザー装置（アコム医科工業 EN-3）にて経鼻感作した。1週間後 1% 卵白アルブミン生理食塩液をマイクロピペットにて 10 μ l ずつ両側鼻腔に滴下し抗原誘発した。amlexanox 20および 60 mg/kg/day は6回感作終了2週間後から1日1回、3週間経口投与した（Fig. 1）。鼻アレルギーの指標として鼻粘膜血管透過性、鼻腔抵抗およびヒスタミン量を測定した。

3-1. 鼻粘膜血管透過性（漏出色素量）

抗原誘発前にモルモットをペントバルビタール（30 mg/kg, i.p.）で麻酔し、気管を切開し、鵜飼らの方法¹⁰⁾に準じ、切開した気管の鼻側にインフュージョンポンプ（テルモ）に接続したポリエチレンチューブを挿入

Received: August 29, 1989

Accepted: December 7, 1989

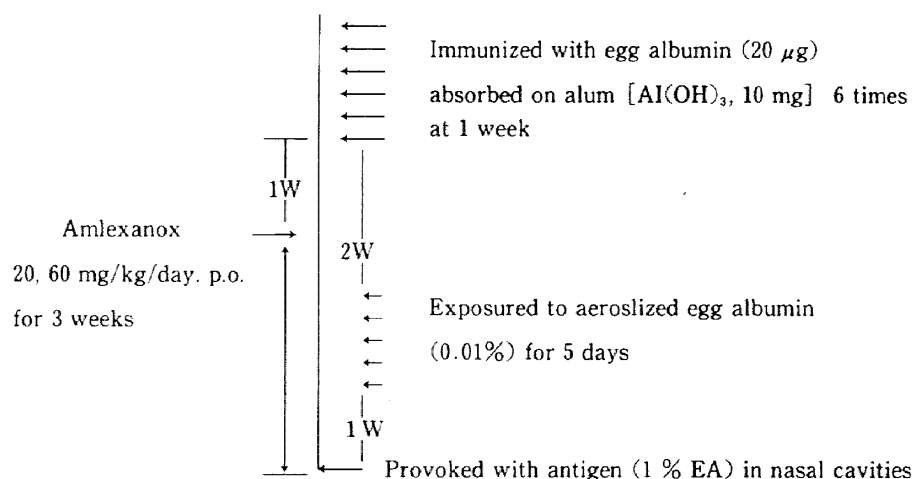


Fig 1. Experimental schedule.

し、次いで、4 % pontamine sky blue を0.5ml/100g 体重の割合で頸静脈内に注射した後、生理食塩液を0.2 ml/分の流速で鼻腔内を灌流した。次いで抗原誘発を行い、さらに生理食塩液を10分間灌流した。抗原誘発前後10分間の灌流液を採取し、3000rpm, 10分間遠心した。上清中の pontamine sky blue の吸光度を波長616 nm で測定した。抗原抗体反応に基づく鼻粘膜血管透過性亢進の指標として、抗原誘発後の漏出色素量から抗原誘発前の漏出色素量を減じた値とした。

3-2. ヒスタミン定量

3-1の項で採取した灌流液中のヒスタミン含量をラジオイムノアッセイで測定した (SRL 研究所, 八王子市)。

3-3. 鼻腔抵抗

鼻腔抵抗は鵜飼らの方法¹⁰⁾に準じ測定した。air compressor から出た圧縮空気を2本の流量計を通して200ml/分に調節し微差圧変換器 (Type PDL-40GB) に接続した後、気管切開側に留置したシリコンチューブを介して鼻腔内へ通気した。微小圧変換器はアンプ (CDV-230C, Kyowa) にて増幅した後 X-Y レコーダーに記録し抵抗を測定した。抗原誘発前後10分間の鼻腔内圧を記録し、鼻腔抵抗は次式より求めた。

$$\text{鼻腔抵抗(R)} = \frac{P(\text{鼻腔内圧})}{F(\text{空気流量, } 0.2\text{l/min})}$$

3-4. パーセント抑制率

抗原誘発後の漏出色素量、鼻腔抵抗値から抗原誘発前のそれぞれ値を減じた値を抗原誘発前の値で除し抑制率 (%) とした。

4. 統計処理

実験成績は平均値±標準誤差で示した。対照群と薬

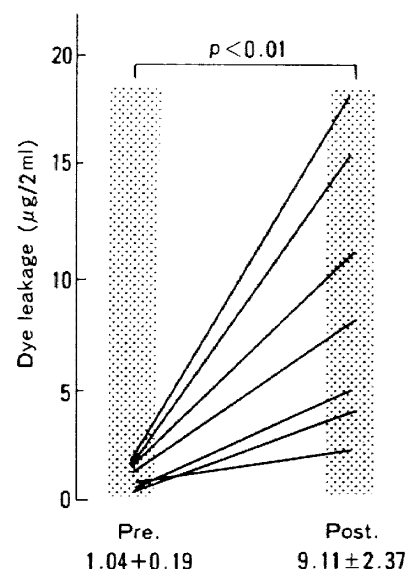


Fig. 2. Dye leakage into the cavity mediated by antigen in actively sensitized guinea pigs (n=7).

物投与群間の有意差検定は Student's t-test により行った。

5. 実験成績

能動感作モルモットの IgE 関与の抗原誘発による鼻アレルギー反応の指標として鼻粘膜血管透過性亢進、ヒスタミン含量の増加及び鼻腔抵抗の上昇を測定した。

対照群の抗原投与前10分間の漏出色素量は $1.04 \pm 0.19 \mu\text{g}/2\text{ml}$ (n=7) であった。抗原誘発後10分間の漏出色素量は $9.11 \pm 2.37 \mu\text{g}/2\text{ml}$ で有意な増加がみられた (Fig. 2)。同様に抗原誘発によって鼻腔灌流液のヒスタミン含量も有意に増加した (Fig. 3)。さらに抗原誘発によって著しい鼻腔抵抗の上昇もみられた。すな

Table 1 Effect of amlexanox on experimental allergic rhinitis in actively sensitized guinea pigs

	Dose (mg/kg/day, p.o.)	No. of animals	Dye leakage (μ g/2 ml)	Histamine (ng/2 ml)	Nasal resistance (mmH ₂ O/ml/sec)
Control	—	7	8.07 $\pm$ 2.21	4.82 $\pm$ 0.84	14.7 $\pm$ 2.4
Amlexanox	20	8	0.73 $\pm$ 0.28** (91)	1.76 $\pm$ 0.64 (63)	3.5 $\pm$ 2.7** (76)
	60	4	0.53 $\pm$ 0.20** (93)	0.84 $\pm$ 0.24** (83)	-2.7 $\pm$ 1.2* (100)

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control (Student's *t* test).

() indicate percent inhibition. Values are mean $\pm$ SE.

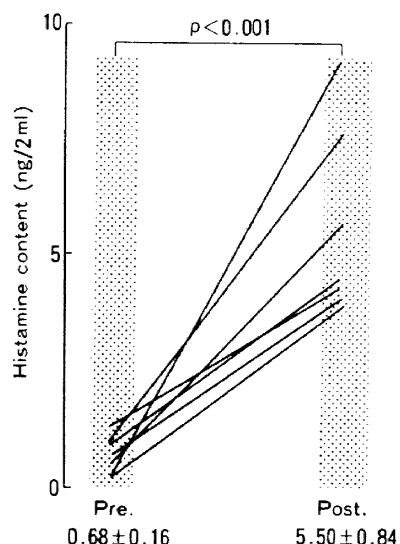


Fig. 3. Histamine content in nasal perfusate mediated by antigen in actively sensitized guinea pigs (n=7).

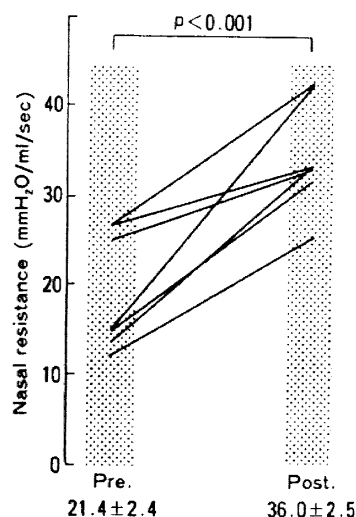


Fig. 4. Nasal resistance mediated by antigen in actively sensitized guinea pigs (n=7).

わち、抗原誘発前では 21.4 ± 2.1 mmH₂O/ml/secであったのに対して抗原誘発後では 36.0 ± 2.5 mmH₂O/ml/secで有意に上昇した (Fig. 4).

モルモットの鼻アレルギーに対する抑制作用を検討した. amlexanox 20および60mg/kg/day 経口投与は、鼻粘膜血管透過性亢進反応を用量依存的に抑制し、その抑制率は91 (n=8) および93% (n=4) であった (Table 1).

鼻腔灌流液のヒスタミン含量の増加に対しても有意な抑制作用を示し、その抑制率は63および83%であった. さらに、鼻腔抵抗上昇反応に対しても用量依存的な抑制作用を示し、各々の抑制率は76および100%であった.

考 察

amlexanox の鼻腔内局所および単回経口投与はラットの鼻アレルギーを有意に抑制すること¹¹⁾¹²⁾、及び経口投与が臨床的に喘息に有効であること²⁾³⁾から、amlexanox は連続経口投与で鼻アレルギーを抑制することが期待された. 今回、モルモットの鼻アレルギーモデルを用いて、amlexanox の3週間連続経口投与による薬効を検討した.

今回用いた卵白アルブミンと水酸化アルミニウムゲルによるモルモットの実験的鼻アレルギーモデルはヒトの鼻アレルギーの病態¹³⁾¹⁴⁾に類似していることが報告されている⁹⁾ことから、このモデルを用いて薬効を評価することは有意義であると考えられる.

モルモットの鼻アレルギー反応の指標として鼻粘膜血管透過性の亢進(漏出色素量)、灌流液中のヒスタミン含量の増加及び鼻腔抵抗の上昇によって表した. ヒトの鼻アレルギー症状はくしゃみ、鼻閉及び鼻汁過多によって代表される. 上記の指標の内、鼻粘膜血管透

過性の亢進及び鼻腔抵抗の上昇は主としてヒスタミンによって惹起され、鼻閉を引き起こす。くしゃみ及び鼻汁過多は抗原抗体反応によって遊離されたヒスタミンが知覚神経（三叉神経）の末端に局在する受容体に結合し、その刺激は求心性に中枢に伝達され、上位脊髄を経て「くしゃみ反射」に、また鼻腺へ作用し分泌を亢進させ、鼻汁過多に連なると考えられていることから、これら三主要徴候にはヒスタミンが深く関与していると考えられる。

amlexanox 20および60mg/kg/day 3週間連続経口投与はモルモットのIgE関与の鼻アレルギー反応による鼻粘膜血管透過性の亢進、ヒスタミン含量の増加及び鼻腔抵抗の上昇を用量依存的に抑制した。amlexanoxは主に肥満細胞（好塩基球）からのヒスタミン遊離を抑制し、さらにロイコトリエンの生成遊離抑制及び拮抗作用をも有する化合物である。

amlexanoxの鼻粘膜血管透過性の亢進、ヒスタミン含量の増加及び鼻腔抵抗の上昇に対する抑制作用は抗原抗体反応によるヒスタミン遊離の抑制に基づくことが示唆される。ヒスタミンと同様にヒトの鼻アレルギーにおいて鼻汁中にロイコトリエンC₄及びD₄が遊離¹⁵⁾¹⁶⁾され、さらに、これらのロイコトリエンC₄およびD₄は鼻粘膜に作用し、血流を増加させること¹⁰⁾、鼻汁分泌亢進および鼻粘膜腫脹作用¹⁵⁾¹⁸⁾を有することが報告されている。amlexanoxが鼻粘膜血管透過性亢進をヒスタミン含量増加に比較して強く抑制したのはamlexanoxの有するロイコトリエン生成遊離抑制及び拮抗作用に基づくと考えられる。このことから、モルモットの実験的鼻アレルギー反応にロイコトリエンが関与することが示唆される。また血小板活性化因子(PAF)はヒスタミンによる鼻粘膜腫脹を増強する¹⁹⁾ことから、これら複数のchemical mediatorが鼻アレルギーに関与している可能性が考えられるがその割合については明らかではない。

以上のごとく、amlexanox連続経口投与はヒトの鼻アレルギーに類似したモルモットの実験的鼻アレルギーを抑制したことから、本剤の鼻アレルギーに対する臨床での有効性が示唆される。

文 献

1) Saijo, T., Kuriki, H., Ashida, Y., Makino, H. and Maki, Y.: Inhibition by amoxanox (AA-673) of the immunologically, leukotriene D₄- or

platelet activating factor-stimulated bronchoconstriction in guinea pigs and rats. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 77, 315-321, 1985.

- 2) 信太隆夫, 岸本 進, 田村昌士, 須藤守夫, 滝島 任, 他: amoxanox (AA-673)の気管支喘息に対する臨床薬理学的検討抗原吸入誘発反応および皮内反応に対する抑制効果一. *臨床医薬* 2, 383-392, 1986.
- 3) 岸本 進, 宮本昭正, 信太隆夫, 五十嵐 敢: 気管支喘息に対するアモキサノクス(AA-673)錠の有効性—トラニラストを対照とした多施設二重盲検比較試験—. *医学のあゆみ* 138, 1005-1030, 1986.
- 4) 藤崎恭大, 畠山純一: アレルギー性鼻炎に対するAA-673(アンレキサノクス)錠の使用成績. *Therapeutic Research* 8, 335-345, 1989.
- 5) Saijo, T., Kuriki, H., Ashida, Y., Makino, H. and Maki, Y.: Mechanism of the action of amoxanox (AA-673), an orally active antiallergic agent. *Int. Arch. Allergy Immunol* 78, 43-50, 1985.
- 6) 竹中 洋, 昌子 均, 水越文和, 楠見妙子, 松本 辰美, 栗本 久: amlexanoxの臨床薬理学的研究—末梢白血球からのヒスタミン遊離抑制作用および血中濃度. *アレルギー* 37, 1094-1100, 1988.
- 7) Saijo, T., Makino, H., Tamura, S., Kuriki, H., Ashida, Y., Terao, S. and Maki, Y.: The antiallergic agent amoxanox suppresses SRS-A generation by inhibiting lipooxygenase. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 79, 231-237, 1986.
- 8) 清水達文, 水田淳子, 萩野桂子, 山村秀樹, 河野 茂勝他: アンレキサノクスのヒト肺切片および白血球からのケミカルメディエーター遊離に及ぼす影響. 第62回日本薬理学会総会抄録集, p.164, 1989.
- 9) 寺田修久, 今野昭義, 安藤英樹, 伊藤永子, 戸川 清, 寺田美恵: 卵白アルブミン感作鼻アレルギーモルモットにおける鼻粘膜ムスカリニック受容体の変化と薬物療法による影響. *日耳鼻* 91, 847-855, 1988.
- 10) 鵜飼幸太郎, 雨皿 亮, 坂倉康夫: 正常モルモット鼻粘膜のヒスタミンに対する過敏性および反応性の検討. *アレルギー* 36, 386-393, 1987.
- 11) 栗木 久, 牧 良孝: ラットおよびモルモットの実験的アレルギー性鼻炎に対するamlexanox(AA-673)の作用. *薬理と治療* 14, 6845-6852, 1986.
- 12) 芦田康子, 早川三恵子, 栗木 久, 西条武俊: amlexanox (AA-673)のラットの実験的アレルギー性鼻炎に対する作用. *薬理と治療* 17, 3753-3757, 1989.
- 13) 高橋柳子: 鼻アレルギーの診断の立場から見た下鼻甲介粘膜の組織学的研究. *日耳鼻* 71, 143-155, 1968.

- 14) 道下出秀雄：鼻アレルギーにおける鼻甲介粘膜の組織学的並びに電子顕微鏡学的研究。日耳鼻 72, 1182-1197, 1969.
- 15) 寺田修久, 今野昭義：鼻アレルギーとロイコトリエン 第1報 誘発鼻汁中からロイコトリエンの抽出, 測定及び鼻粘膜に対するロイコトリエン C_4 , D_4 の作用について。日耳鼻 90, 1196-1207, 1987.
- 16) Creticos, P.S., Peters, S.P., Adkinson, N.F. Jr., Nacleorio, R.M., Hayes, E.C., Norman, P.S. and Lichtenstein, L.M.: Peptide leukotriene release after antigen challenge in patients sensitive to regweed. *N. Eng. J. Med.* 310, 1626-1630, 1984.
- 17) Bisgaard, H., Olsson, P. and Bende, M.: Leukotriene D_4 increases nasal blood flow in humans. *Prostaglandins* 27, 599-605, 1984.
- 18) 渡瀬隆雄, 奥田 稔, 大塚博孝, 谷本秀司：鼻粘膜におけるロイコトリエン D_4 効果。耳鼻免疫アレルギー 3, 21-28, 1985.
- 19) 今野昭義, 寺田修久：鼻粘膜腫張, 鼻粘膜過敏性を与える血小板活性化因子 (PAF) の影響について。耳鼻免疫アレルギー 5, 24-25, 1987.

EFFECT OF AMLEXANOX ON EXPERIMENTAL ALLERGIC RHINITIS IN ACTIVELY SENSITIZED GUINEA PIGS

Kotaro Ukai, Atsushi, Yuda, Tsutomu Nonoyama and Yasuo Sakakura
Department of Otorhinolaryngology, Mie University School of Medicine

Yasuko Ashida

Biology Research Laboratories, Research and Development Division, Takeda Chemical Industries, LTD

The effect of amlexanox given orally for 3 weeks was studied on the IgE-mediated experimental allergic rhinitis in the actively sensitized guinea pigs. The intranasal instillation of antigen (egg albumin) induced the increase of nasal vascular permeability (dye leakage), histamine content in nasal perfusate and nasal resistance in sensitized guinea pig. Amlexanox, 20 and 60 mg/kg/day given orally for 3 weeks significantly inhibited the increase of dye leakage into the nasal cavity, histamine content and nasal resistance in a dose-dependent manner. These results suggest that amlexanox given orally may be useful therapeutic agent for human allergic rhinitis.