

〔速報〕

スギ花粉症における血小板活性化因子 —血清中 lyso-PAF 値の測定および治療による変動—

1) 東京大学医学部物療内科

2) 松村クリニック, 喘息膠原病研究所

仲村恒敬¹⁾ 松村行雄²⁾ 石原桂子¹⁾ 栗山基朗¹⁾ 宮本昭正¹⁾

代表的なアレルギー性疾患のひとつであるスギ花粉症は、近年患者数の増加がみられ、大きな社会問題となりつつある。一方、血小板活性化因子 (PAF) は、アレルギー反応および炎症性反応のメディエーターとして注目を集めている磷脂質である。そこで著者らは、PAF のスギ花粉症における役割を血清中 PAF 代謝物 (lyso-PAF) の濃度を測定することにより検討した。

スギ花粉症患者30例の血清中 lyso-PAF 値 (87.8 ± 8.7 unit) は健常人血清中 (54.9 ± 7.7 unit) に比べ有意に増加していた。さらに、本症における抗アレルギー剤, ketotifen, 投与による血清中 lyso-PAF への影響についても検討した。ketotifen (2mg/日) の投与によりスギ花粉症患者16例の血清中 lyso-PAF 値 (82.6 unit) は2週後には、41.3 unit と有意に低下した。

これらの成績は、PAF がスギ花粉症の病態発現に重要な役割を果たしているであろうことを示唆するとともに、抗アレルギー剤の薬理作用の一端は抗 PAF 作用による可能性を示すものと思われた。

Key words: Japanese cedar pollinosis — ketotifen — lyso-PAF — PAF

緒言

血小板活性化因子 (PAF) はアレルギー反応および炎症反応における重要なメディエーターとして、近年注目を集めている磷脂質である¹⁾。PAF によって気管の攣縮作用、血管透過性の亢進作用、気道への炎症細胞の集積作用などが生じることが知られ、気管支喘息の病態に PAF が関与していることを示唆する報告がみられる²⁾³⁾。さらに、PAF を直接、動物モデルに吸入させると気管の攣縮や、気道への炎症細胞の集積が起こることが確認されている⁴⁾⁵⁾。また、著者らは気管支喘息患者に実施した抗原吸入誘発テストで、遅発型喘息発作の時期に一致して、PAF 代謝物 (lyso-PAF) が流血中に増加することを報告した⁶⁾。一方、スギ花粉症も気管支喘息とならぶ代表的なアレルギー性疾患のひとつであり、最近では、本症に罹患する患者数が急激に増加し、医学的のみならず、社会的にも大きな問題となりつつある。

そこで今回著者らは、スギ花粉の飛散時期におけ

るスギ花粉症患者における血清中 lyso-PAF 値を測定することにより、PAF が本症の病態にどのように関与しているかを検討した。また、スギ花粉症の治療に用いられている抗アレルギー剤の患者血清中 lyso-PAF 値への影響についても併せて調べた。

材料と方法

1) 血清の採取：未治療のスギ花粉症患者30例(男性8例, 女性22例, 年齢19～57歳)の静脈血を外来受診時に採取した。本症の診断は、臨床症状、既往歴、血清 IgE 値、好酸球数、スギ花粉に対する皮膚反応あるいは RAST 値によった。分離した血清は、lyso-PAF の PAF へのアセチル化まで直ちに -20°C に保存した。30例中18例については、抗アレルギー剤, ketotifen (2mg/日) 投与群および非投与群に分け、投与前、投与開始後2週間の時点において血清を採取した。なお、両群とも beclomethasone dipropionate と点鼻剤は使用を許可した。

2) lyso-PAF のアセチル化：lyso-PAF の生物学的活性を有する PAF へのアセチル化は既に報告した方法で実施した⁶⁾。すなわち、100 μl の血清を500 μl のメ

Received: March 1, 1990

Accepted: May 16, 1990

Abbreviation: BSA bovine serum albumin;
PAF platelet-activating factor

タノールを加え遠沈することにより除蛋白した。除蛋白化したサンプルから Bleigh と Dyer の方法⁷⁾により脂質分画を抽出したのち、1ml のクロロホルム分画を 0.02ml の次亜塩素酸の存在下で、0.2ml の無水酢酸と反応させることにより lyso-PAF の PAF へのアセチル化を実施した。なお、アセチル化により合成した PAF の特異性は、特異的 PAF 拮抗剤である CV3988⁸⁾を用い確認した。すなわち、 1×10^{-6} M 以上の CV3988 で処理したウサギ血小板の凝集反応は、PAF に対してのみほぼ完全に抑制され、他の凝集素添加時には何ら影響がみられなかった。

3) PAF 活性の測定：PAF 活性は、洗浄ウサギ血小板の凝集反応を血小板凝集計（二光 Hematracer, pat 4A）を用いて測定した⁹⁾。4~6 $\times 10^6$ /ml に Tyrode-BSA (0.25%) 溶液中で調整した洗浄ウサギ血小板液 200 μ l を凝集計キューベットに入れ、20 μ l の検体を加え、光線透過度の変化を凝集計で測定した。PAF 活性は PAF 標品（フナコシ薬品）を用いて作成した標準曲線より算出し、unit 表示した。1 unit はウサギ血小板の 2 次凝集を生じる最少濃度であり、約 PAF 1ng/ml に相当した。

4) 統計学的処理：スギ花粉症患者および対照の健康人血清中の lyso-PAF 値を unit (mean $\pm$ SEM) で表し、double tailed Student-t-test で検定し、 $p < 0.05$ 以下を統計学的に有意とした。抗アレルギー剤投与の影響も同様の方法により検定した。

結 果

1) スギ花粉症患者血清中の lyso-PAF 値：未治療のスギ花粉症患者 30 例のアセチル化後の PAF 値（血清 lyso-PAF 値）は、87.8 $\pm$ 8.7unit (mean $\pm$ SEM) と健康人血清中の lyso-PAF 値 54.9 $\pm$ 7.7unit と比べ有意 ($p < 0.05$) に増加していることが確認された (Fig. 1)。

2) スギ花粉症患者血清中 lyso-PAF 値に及ぼす抗アレルギー剤の影響：スギ花粉症患者のうち、beclomethasone 点鼻および ketotifen (2mg/日) 投与群 (12 例) においては、投与前の血清 lyso-PAF 値 82.6 unit は 2 週間後には 41.3unit と有意 ($p < 0.05$) に低下した。一方、点鼻剤のみの群 (6 例) では、投与前の lyso-PAF 値 97.2unit が 2 週間後に 70.5unit と低下傾向を示したが、統計学的には有意差は認められなかつ

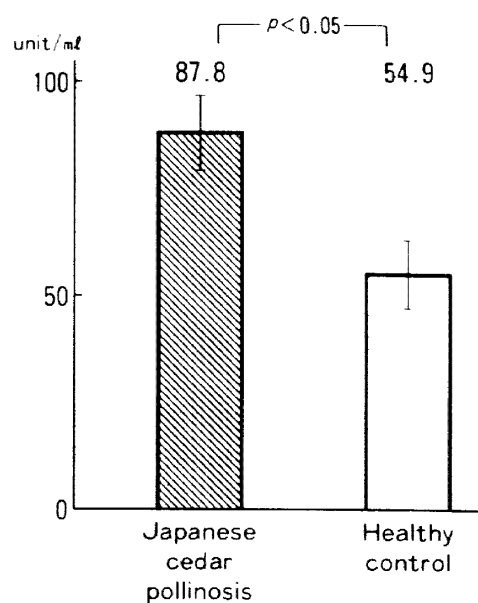


Fig. 1. Serum lyso-PAF levels from patients with Japanese cedar pollinosis and healthy control.

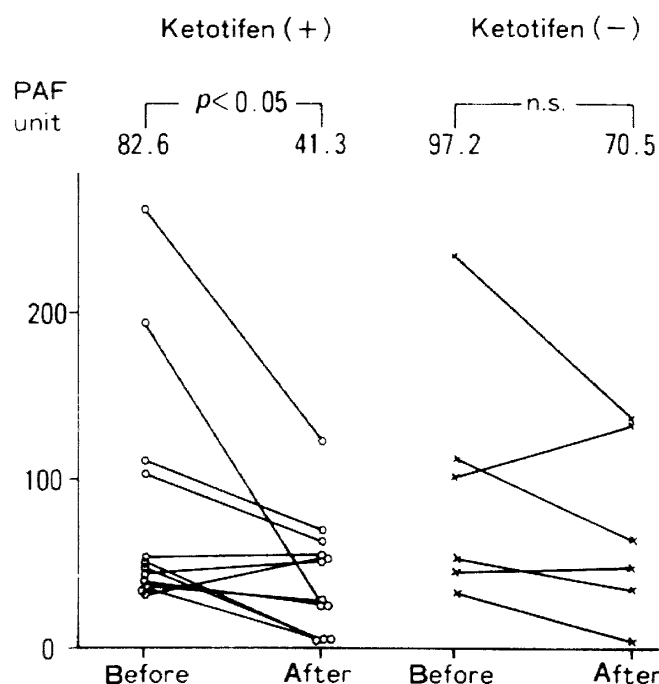


Fig. 2. Alterations of serum lyso-PAF levels among patients with Japanese cedar pollinosis; after 2 weeks therapy with and without ketotifen.

た (Fig. 2)。

考 案

血小板活性化因子 (PAF) がアレルギー性疾患の病

因に深く関与しているであろうことを示唆する報告が数多くみられている¹¹⁻⁶⁾。今回、著者らは、スギ花粉症における PAF の動態を検討するのに、PAF そのものでなく lyso-PAF を測定したのは、PAF は流血中で速やかにアセチルヒドラーゼの作用により生物活性を持たない lyso-PAF に代謝され PAF それ自体を測定できないことによる。しかし、PAF の代謝経路はいくつか知られているが、主要代謝経路は lyso-PAF であり、lyso-PAF 値は PAF の産生量を反映することが知られており¹⁰⁾¹¹⁾、このことは、スギ花粉症患者血清中の lyso-PAF 値の増減は体内における PAF 産生量の影響下にあるものと考えられたからである。

スギ花粉症は堀口、斉藤により報告された¹²⁾のが端緒とされるが、年毎に患者数の増加が認められ、現在では人口の約10%近くが本疾患に罹患しているとさえいわれている。今回の著者らの検討によると、スギ花粉症患者血清中の lyso-PAF 値は、対照の健常人血清中の lyso-PAF に比べ有意に増加していた。このことは、PAF の持つ血管透過性亢進作用、好中球、好酸球の集積および活性化作用などの生物学的作用を考えると、くしゃみ、鼻汗・鼻閉、結膜炎など本症の主要症状の発現に PAF が重要な役割を果たしているものと考えられる。

著者らは、抗アレルギー剤として広く使用されている、DSCG (disodium cromoglycate), ketotifen, tranilast の *in vitro* でのヒト好中球の PAF 産生へ及ぼす影響について検討し、ketotifen が濃度依存性に ionophore A23187 刺激による PAF 産生を抑制することを報告した¹³⁾。そこで今回、スギ花粉症にも使用されている ketotifen の投与による血清中 lyso-PAF 値への影響についても検討した。図 2 から明らかなように、ketotifen 2mg/日 2 週間投与で、スギ花粉症患者血清中の lyso-PAF 値は有意に低下したことが認められた。このことは、ketotifen は *in vitro* だけでなく、生体内でも PAF 産生に抑制的に作用している可能性を示しているものと思われた。また、臨床症状の改善は、点鼻剤単独群にも認められたところから、PAF のみで花粉症の病態を説明しうるものではないことは明白である。このことは、ketotifen 以外の DSCG, tranilast が *in vitro* ではヒト好中球の PAF 産生を抑制しない¹³⁾が、抗アレルギー剤として広く臨床応用されていることから明らかなである。

PAF のスギ花粉症における役割を解明するには、さらに詳細な検討が必要であることは論をまたないが、

PAF が本症の臨床症状の発現に関与しており、本症の治療にも使用される抗アレルギー剤である ketotifen の薬理効果発現の一部は抗 PAF 作用によるものであることが考えられた。

文 献

- 1) O'Flaherty, J.T. and Wynkle, R.T.: Biology and biochemistry of platelet activating factor. *Clin. Rev. Allergy* 1, 353-367, 1983.
- 2) Morley, J.S., Sanjar, S. and Page, C.P.: The platelet in asthma. *Lancet* 2, 1142-1144, 1984.
- 3) Page, C.P., Archer, C.B., Paul, W. and Morley, J.: PAF-acether; a mediator of inflammation and asthma. *TIPS* June, 239, 1984.
- 4) Page, C.P., Paul, W. and Morley, J.: Platelets and bronchospasm. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 74, 347-350, 1984.
- 5) Vargatig, B.B., Lefort, J., Chignard, M. and Benveniste, J.: Platelet-activating factor induces a platelet dependent bronchoconstriction unrelated to the formation of prostaglandin derivatives. *Eur. J. Pharmacol.* 65, 185-192, 1980.
- 6) Nakamura, T., Morita, Y., Kuriyama, M., Ishihara, K., Ito, K. and Miyamoto, T.: Platelet-activating factor in late asthmatic response. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 82, 57-61, 1987.
- 7) Bleigh, E.G. and Dyer, W.J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917, 1957.
- 8) Terashita, Z., Tsushima, S., Yoshioka, Y., Nomura, H., Inada, Y. and Nishizawa, K.: CV-3988, A specific antagonist of platelet-activating factor (PAF). *Life Sci.* 32, 1975-1982, 1983.
- 9) Satouchi, K., Oda, M., Saito, K. and Hannahan, D.J.: Metabolism of 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol by washed rabbit platelets; formation of platelet-activating factor production in the human neutrophil. *Archs. Biochem. Biophys.* 234, 318-321, 1984.
- 10) Snyder, F.: Chemical and biochemical aspects of platelet-activating factor, a novel class of acetylated ether-linked choline phospholipids. *Med. Res. Rev.* 5, 107-140, 1985.
- 11) Robinson, M. and Snyder, F.: Metabolism of platelet-activating factor by rat alveolar macrophages; lyso-PAF as an obligatory interme-

- diate in formation of alkylarchidonoyl glycerophosphocholine species. *Biochem. Biophys. Acta* 837, 52-56, 1985.
- 12) 堀口申作, 齊藤洋三: 栃木県日光地方におけるスギ花粉症. *Japanese Cedar Pollinosis* の発見. *アレルギー* 13, 16-18, 1964.
- 13) 仲村恒敬, 栗山基朗, 石原桂子, 森田 寛, 伊藤幸治, 宮本昭正: 抗喘息薬のヒト好中球血小板活性化因子産生抑制. *医学のあゆみ* 146, 919-920, 1988.

PLATELET-ACTIVATING FACTOR IN JAPANESE CEDAR POLLINOSIS

Takayoshi Nakamura, Keiko Ishihara, Motoo Kuriyama and Terumasa Miyamoto

Department of Internal Medicine and Physical Therapy, Faculty of Medicine, University of Tokyo

Yukio Matsumura

Matsumura Clinic and Research Institute for Asthma and Immunological Diseases

Japanese cedar pollinosis is a typical allergic disease and has recently become a big social problem. Many population are suffering from this disease every year from the end of February to the beginning of April. In this study, we planned to examine the role of platelet-activating factor (PAF) in this disease, because PAF has been known to be one of the potent chemical mediators in allergic and inflammatory reactions and many evidences indicate that PAF is deeply involved in the pathogenesis of bronchial asthma, a typical allergic disease.

We measured the concentrations of the PAF derivative (lyso-PAF) in serum from patients with cedar pollinosis during the pollen season. The level of lyso-PAF in serum from untreated patients with cedar pollinosis (87.8 ± 8.7 unit.) was significantly higher than that in healthy control (54.9 ± 7.7 unit.).

We also tested the effect of an anti-allergic drug on the level of serum lyso-PAF of cedar pollinosis. Eighteen pairs of serum samples from patients with cedar pollinosis were employed in this study. Lyso-PAF levels after two weeks' therapy with ketotifen (2 mg/day), an anti-allergic drug, decreased the levels significantly (from 82.6 unit to 41.3 unit.).

These results suggest that PAF could play some important role in cedar pollinosis and that the clinical effect of anti-allergic drug could be partially due to the anti-PAF action.