

Benzonitrile化合物の免疫薬理学的評価

渡辺 昭彦

要約：側鎖にacetoxymino基を有する一群のbenzonitrile化合物の中で最も強い抗アレルギー作用を有する3,5-bis(acetoxycethylamino)-4-chloro-benzonitrile (以下, TYB-2285と称する)の免疫薬理学的な特性について紹介する。TYB-2285は, ラット受動皮膚アナフィラキシー(PCA)において1-30 mg/kgで用量依存的な抑制作用を示し, 受動腹腔アナフィラキシー(PPA)において腹腔へのhistamine遊離を著明に抑制する。TYB-2285はIgE抗体で受動感作した腹腔マストセルをin vitroで抗原誘発して惹起したhistamine遊離を 10^{-4} Mでも抑制しない。TYB-2285はinterleukin-3(IL-3)でprimingしたマウス骨髄由来マストセル(Persisting cell; P-cell)からの抗原誘発によるhistamine遊離を抑制するが, IL-3無処置P-cellからの抗原誘発によるhistamine遊離を抑制しない。同様の結果はヒト末梢血好塩基球でも認められる。また, IL-3によるhistamine遊離の増強は抗CD11b抗体で抑制される。TYB-2285はヒト末梢血好酸球の培養ヒト血管内皮細胞への接着を濃度依存的に抑制するが, DSCGあるいはketotifenは生理的な濃度で抑制しない。TYB-2285は10-100 mg/kgで用量依存的にラット気道への好酸球浸潤を抑制する。TYB-2285は抗原誘発によるラット即時型気道狭窄反応を3-30 mg/kgで用量依存的に抑制し, ヒツジ自然感作喘息モデルにおいても抗原誘発後の投与により誘発6-8時間後の遅発型気道狭窄反応及び24時間後の気道過敏性を抑制する。TYB-2285は抗アレルギー作用に加えてT細胞依存性好酸球浸潤を抑制することから, 喘息治療薬としての可能性が期待される。その作用機序については, 主として細胞接着抑制作用に基づくものと考えられる。

索引用語：TYB-2285: 接着分子: 好酸球: IL-3:抗アレルギー作用 :喘息 (文31)

An immunopharmacological study of benzonitrile derivatives.

AKIHIKO WATANABE

Abstract: Benzonitrile derivatives with acetoxymino groups have strong anti-allergic actions. Among these compounds, 3,5-bis (acetoxycethylamino)-4-chloro-benzonitrile (TYB-2285) is the strongest anti-allergic drug. In this review, immunopharmacological profile of TYB-2285 will be described. TYB-2285 inhibits passive cutaneous anaphylaxis at 1-30 mg/kg and also inhibits antigen-induced histamine release in passive peritoneal anaphylaxis. TYB-2285 does not inhibit antigen-induced histamine release from peritoneal mast cells passively sensitized with IgE even at 10^{-4} M. TYB-2285 inhibits antigen-induced histamine release from IL-3-primed persisting cells,

東洋紡績株式会社医薬研究所

〒520-02 滋賀県大津市堅田2-1-1

(現, バイエル薬品(株)アレルギー研究所)
〒619-02 京都府相楽郡木津町見台
6-5-1-3

Pharmaceuticals Research Center, Toyobo Co., Ltd.

Katata 2-1-1, Ohtsu, Shiga, 520-02, Japan

(Present: Institute of Allergy, Bayer Yakuin Ltd.)
Kunimi-dai 6-5-1-3, Kizu-cho, Soraku-gun,
Kyoto, 619-02, Japan

*本解説は岐阜薬科大学博士論文(乙第218号)の内容を中心にまとめたものである。

but not from unprimed persisting cells. The same result was obtained in human basophils. The priming effect of IL-3 is inhibited by anti-CD11b antibody. Adhesion of eosinophils to cultured human endothelial cells was inhibited by TYB-2285 and anti-VLA-4 antibody, but not by DSCG, ketotifen or anti-Mac-1 antibody. TYB-2285 inhibits antigen-induced accumulation of eosinophils into the airway of sensitized rats at 10-100 mg/kg. TYB-2285 inhibited acute bronchoconstriction in rats at 3-30 mg/kg. TYB-2285 inhibited late bronchoconstriction and airway hyperreactivity in allergic sheep when given after antigen provocation. These results, taken together, show that TYB-2285 is a promising anti-asthmatic drug because of not only its anti-allergic effect, but also of its inhibitory effect on eosinophil accumulation. The mechanism of action of TYB-2285 is suggested to inhibit cell-cell adhesion.

Key phrases : TYB-2285; adhesion molecule; eosinophil; interleukin-3(IL-3); anti-allergic; asthma (Ref 31)

本邦ではこれまで多くの抗アレルギー薬と呼ばれるマストセル安定化作用を示す薬物[1, 2]が開発され、臨床応用されてきたが、その有用性は決して高いとは言えない。その原因として、アレルギー反応の実験方法が臨床の病態と大きく異なっている点が挙げられる。すなわち、アレルギー性疾患治療薬の薬理学的研究手段を考える上で、用いる実験動物とヒトとの種差の問題およびin vivoとin vitroの相違、関与する細胞などは大きな問題であり、これらを考慮しないで研究を推進することはできない。種差については、これまでに多くの抗アレルギー薬は一般にラットのマストセルに対しては感受性が高い[3]が、ヒトのマストセル、好塩基球に対しては極めて感受性が低い[4]ことが指摘されている。また、in vitroとin vivoの相違の問題としては、通常in vitroの実験では単離されたマストセル、好塩基球を用いて脱顆粒を惹起しているが、in vivoではマストセル、好塩基球は周囲の様々な細胞と密接に接着しており、プライミングを受けた状態で反応を惹起しているものと考えられる[5, 6]。さらに、アレルギー炎症局所ではマストセル以外に好酸球等の炎症性細胞による組織の傷害もアレルギー炎症の発症と慢性化に重要な役割を担っている。従って、アレルギー性疾患治療薬を評価する際には、これらのことを念頭においた実験系を構築することが必要である。

本稿では、3,5-bis(acetoxycethylamino)-4-chloro-benzonitrile(Fig.1, TYB-2285)の免疫薬理的性質について紹介する。

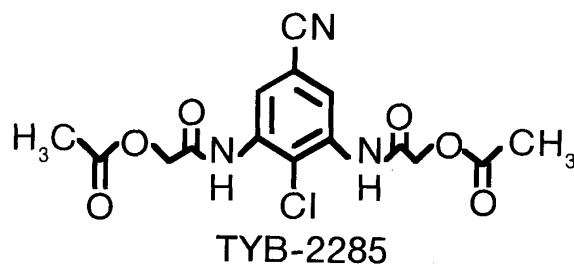


Fig.1 Chemical structure of TYB-2285, a benzonitrile derivative. 3, 5-bis(acetoxycethylamino)-4-chloro-benzonitrile; molecular weight; 367.75

1. Benzonitrile系化合物TYB-2285の抗アレルギー作用

1.1. ラット受動皮膚アナフィラキシー(Passive Cutaneous Anaphylaxis; PCA)に及ぼす影響

毛刈りしたラット背部皮内に抗卵白アルブミン IgE抗体を100 μ l/site注射して受動感作し、感作48時間後に抗原(卵白アルブミン)と青色の色素(evans blue)を静脈内注射することにより、感作部位に青い色素の漏出が認められる。TYB-2285およびketotifenを抗原誘発30分前に1, 3, 10および30 mg/kg経口投与し、PCAに及ぼす影響を検討した成績をFig.2に示す。

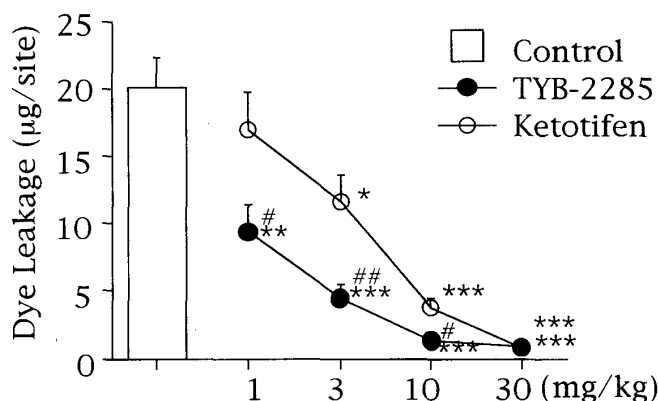


Fig. 2 Effects of TYB-2285 and ketotifen fumarate on OA-induced PCA in rats. Drugs were given p.o. 30 min before antigen challenge. Data are shown as mean and SEM of 8 animals. *, **, ***: $p < 0.05$, 0.01, 0.001 vs Control, respectively. #, ##: $p < 0.05$, 0.01 vs ketotifen fumarate, respectively

いずれの薬物もPCAを用量依存的に抑制する。TYB-2285およびketotifenの50%反応抑制用量はそれぞれ0.5および3.9 mg/kgと計算され、TYB-2285は1, 3および10 mg/kgでいずれもketotifenに比べて高い抑制率を示すことから、TYB-2285のPCA抑制作用はketotifenより強いものと考えられた[7]。

1.2. ラット受動腹腔アナフィラキシー(Passive Peritoneal Anaphylaxis)に及ぼす影響

TYB-2285, DSCGおよびamlexanoxの10 mg/kgをそれぞれ抗原誘発0.5, 1あるいは5分前に腹腔内投与してラットPPAに及ぼす影響を検討した成績をTable 1に示す。

Table 1 Effects of TYB-2285, DSCG and amlexanox on peritoneal anaphylaxis in rats

Drugs	Dose (mg/kg)	Time (min)	Route	n	Released Histamine (ng/ml)	Inhibition (%)	Dye Leakage (μg/site)	Inhibition (%)
Control	-	0.5	i.p.	6	755±88	-	41.3±5.3	-
TYB-2285	10	0.5	i.p.	5	482±21**	36.2	32.7±6.2	20.9
TYB-2285	10	1	i.p.	5	321±35**	57.5	17.5±2.3**	57.6
TYB-2285	10	5	i.p.	5	358±43*	52.6	21.1±2.2**	49.0
DSCG	10	0.5	i.p.	5	154±117**	79.6	13.2±4.7**	68.1
Amlexanox	10	0.5	i.p.	5	109±35**	85.6	10.4±2.0**	74.8

Wistar strain male rats were passively sensitized with diluted anti-dinitrophenyl-ovalbumin(DNP-OA) antibody. Twenty-four hr later, rats were challenged by i.p. injection of the antigen. Five min after challenge, peritoneal lavage was performed. Histamine content in the collected ascitis and its ability to induce capillary permeability was measured. Drugs were given i.p. 0.5, 1 or 5 min before antigen challenge. Data are shown as mean and SEM of 5-6 animals. *, **: $p < 0.05$, 0.01 vs Control, respectively

いずれの薬物も ascitis中のhistamine遊離量を減少させ、ascitisによる血管透過性惹起能を抑制する。TYB-2285も他の抗アレルギー薬も著明な抑制作用を示すと共に、投与した動物のascitisのhistamine含量の抑制とほぼ同程度にascitisの血管透過性惹起能を抑制するので、これらの薬物は抗原誘発によるメディエーター遊離を抑制することにより、血管透過性亢進を抑制するものと思われる。

1.3. ラット受動感作腹腔マストセルからの抗原誘発によるhistamine遊離に及ぼす影響

TYB-2285の 10^{-6} ~ 10^{-4} Mを抗原誘発30秒前に単離腹腔マストセル懸濁液に添加してIgE依存性の抗原誘発による腹腔マストセルからのhistamine遊離に及ぼす影響を検討した成績をFig.3に示す。

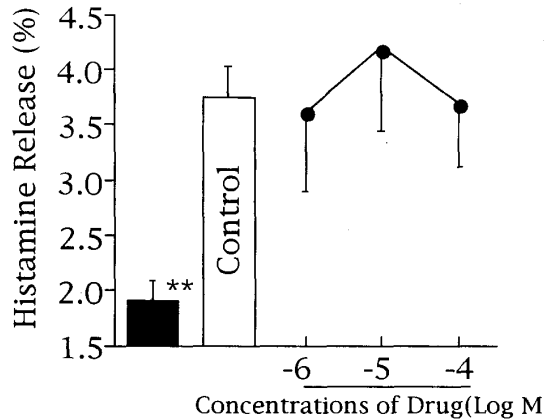


Fig. 3 Effects of TYB-2285 on nonphylactic histamine release from rat peritoneal exudate cells. Drugs were added 30 sec before antigen challenge. After 15 min incubation, released histamine was measured by radiomunoassay. Open and closed column shows Control and Spontaneous release, respectively. ●:TYB-2285, Data is shown as mean and SEM of 4 experiments. **:p<0.01 vs Control

TYB-2285はいずれの濃度においても抗原誘発による単離腹腔細胞からのhistamine遊離に影響を及ぼさない。この成績は、さきほどのPPAの成績とは異なるものであった。この結果の相違の原因については明らかではないが、近年マストセルおよび好塩基球のhistamine遊離にはそれらの細胞周囲の様々な因子が関係しており、in vivoではそれらの因子によりマストセルおよび好塩基球の脱顆粒が著明に増幅されていることが報告されている[8, 9, 10, 11]。従って、TYB-2285はin vivoにおいてそれらの因子により調節を受けたマストセルおよび好塩基球に作用してhistamine遊離を抑制している可能性が考えられる。

1.4. interleukin-3(IL-3)でprimingしたマウスpersisting cell(p-cell)からの抗原誘発によるhistamine遊離に及ぼす影響

近年、interleukin-3(IL-3)やgranulocyte monocyte colony stimulating factor(GM-CSF)が抗原誘発によるヒト末梢白血球からのhistamine遊離およびpeptide leukotriene遊離を増強することが示されている[9, 10, 11]。また、アレルギー反応を起こした動物ではIL-3が反応局所に産生されている[12]ことも報告されている。従って、in vivoのアレルギー反応においては、IL-3のようなサイトカインによりメディエーター遊離が増強されている可能性が考えられる。そこで、次にマストセルをprimingした状態でのhistamine遊離について述べる。

TYB-2285(10^{-4} M)のIL3-CM存在下、非存在下におけるP-cellからのhistamine遊離に及ぼす影響をIL3-CM処置時間を5分および15分として検討した成績をFig.4に示す。

TYB-2285はIL3-CM非存在下での抗原誘発によるhistamine遊離には影響を及ぼさないが、IL3-CMにより増強されたhistamine遊離をほぼ完全に抑制する[13]。

感作マウスを抗原誘発すると、造血臓器にIL-3活性が増加すること[12]、マストセルを抗IgE、抗原、イオノマイシンなどで刺激するとIL-3等のサイトカインが産生される[14, 15, 16]ことから、in vivoにおいてアレルギー反応によりIL-3が産生されること、さらには産生されたIL-3によりアレルギー反応が増幅されていることが多くの研究者により示唆されている。さらに、Schleimerら[17]はIL-3が遅発型のアレルギー反応に重要な役割を果たしていると述べている。TYB-2285はIL3-CMで増強されたhistamine遊離を選択的に抑制することから、in vivoにおいてもIL-3等のサイトカインで増強されたhistamine遊離を抑制し、増幅されたアレルギー性炎症を抑制することが考えられた。

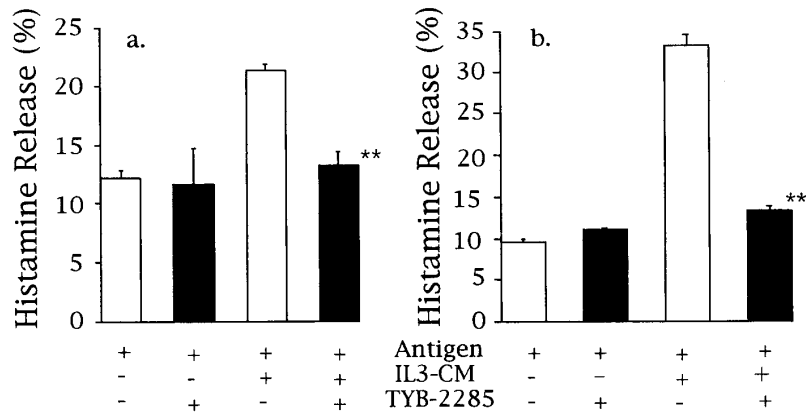


Fig. 4 Effect of TYB-2285 on antigen-induced histamine release from P-cells in the presence/absence of IL3-CM was pretreated for 5 min(a) or 15 min(b). **:p<0.01 vs Antigen + IL3-CM.

2. recombinant IL-3(rIL-3)でprimingしたヒト末梢血好塩基球からの抗原誘発によるhistamine遊離に及ぼす影響

TYB-2285 10^{-7} ~ 10^{-4} MのrhIL-3存在下および非存在下におけるヒト好塩基球からのhistamine遊離に及ぼす影響を検討した成績をFig.5に示す。

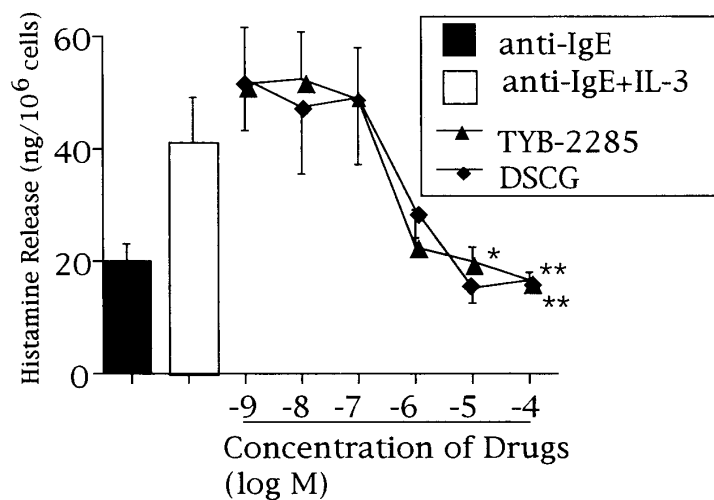


Fig. 5 Effects of TYB-2285 and DSCG on histamine release induced by anti-IgE($0.03 \mu\text{g/ml}$, 15 min) from basophils of normal subjects in the presence of rhIL-3(10 U/ml , 5 min). Column, symbol and vertical bar shows mean and SEM of 8-18 subjects, respectively. *, **:p<0.05, 0.01 vs anti-IgE + IL-3, respectively.

TYB-2285は rhIL-3存在下におけるhistamine遊離を濃度依存的に抑制するが、rhIL-3非存在下ではFig.6に示すように、TYB-2285は 10^{-3} Mにおいてのみhistamine遊離を抑制し、それ以下の濃度では全く抑制作用は認められない。DSCGも同様の成績を示す[18]。

上述のごとく、TYB-2285およびDSCGはrhIL-3存在下での抗IgE抗体による好塩基球からのhistamine遊離を抑制するが、rhIL-3非存在下でのhistamine遊離には影響を与えない。

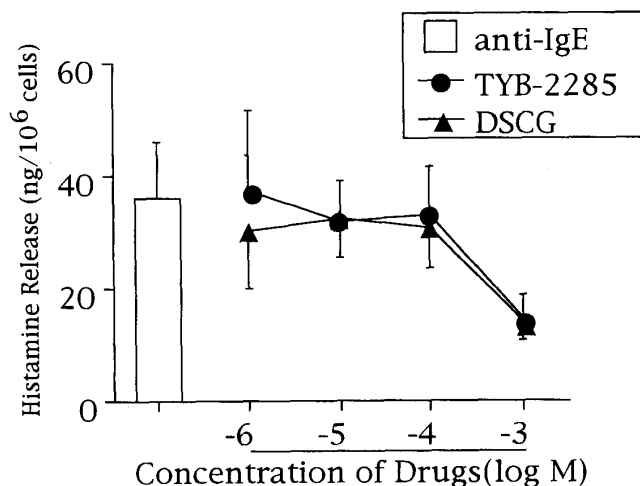


Fig. 6 Effects of TYB-2285 and DSCG on histamine release induced by anti-IgE ($1\mu\text{g/ml}$, 15 min) from basophils of normal subjects in the absence of rhIL-3. Column, symbol and vertical bar shows mean and SEM of 2-5 subjects, respectively. **: $p < 0.01$ vs anti-IgE

そこで、このようなIL-3の作用が好塩基球と他の細胞との接着を介して発現しているか否かを確認する目的で接着分子CD11分子およびCD18分子に対するモノクローナル抗体の作用をマウスIgG₁を対照に検討した成績をFig.7に示す。抗接着分子抗体を10倍希釈(a; 左図)した場合も原液(b; 右図)の場合と同様、rhIL-3存在下における好塩基球からのhistamine遊離は抗CD11bモノクローナル抗体で抑制されたが、抗CD11aモノクローナル抗体、抗CD18モノクローナル抗体およびマウスIgG₁では抑制されない[19]。

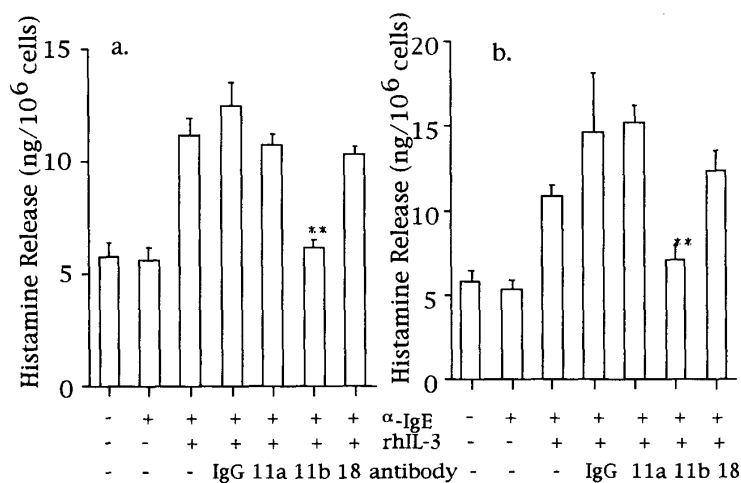


Fig. 7 Effects of 10-fold diluted and non-diluted antibodies, anti-CD11a, and anti-CD11b and anti-CD18, on histamine release enhanced by rhIL-3. Column and vertical bars show mean and SEM of 3 subjects. α-IgE: anti-IgE, IgG: Mouse IgG₁, 11a: anti-CD11a, 11b: anti-CD11b, 18: anti-CD18, **: $p < 0.01$ vs anti-IgE + rhIL-3.

rhIL-3による好塩基球からのpriming効果の作用メカニズムは不明であるが、Schleimer[17]らは好塩基球上のIgEレセプター数やIgE分子数の増加とは関係しないとしている。Bochnerら[20]はrhIL-3が好塩基球の内皮細胞への接着を促進すること、rhIL-3が好塩基球表面上のCD11b分子の発現を増加させることを認めている。Yasuda[8]らはラット腹腔マストセルはfibronectinに接着することにより脱顆粒が亢進され、この増進した脱顆粒は抗接着分子抗体により抑制されること、さらにラットPCAも抗接着分子抗体で著明に抑制されることを報告している。これらの結果から、rhIL-3は好塩基球上の接着分子の発現を増加させてhistamine遊離の増強をきたすことが推察される。我々の成績でもCD11bに対するモノクローナル抗体によりIL-3によって増強されたhistamine遊離が抑制されることから、IL-3による接着分子、特にCD11bの発現増強もしくは親和性の増強が強く関与するものと思われる。DSCGは典型的な抗アレルギー薬であり、直接的な接抑制作用を示す報告は見当たらない。しかしながら、坂口ら[21]はマウスp-cellsはfibroblastに接着することにより、primingを受けること、DSCGは接着したマストセルからの抗原誘発によるhistamine遊離のみを抑制すると報告しており、我々の成績と合致するものであった。

3. 好酸球浸潤に対する作用

3.1. ヒト末梢血好酸球、好中球の培養ヒト内皮細胞への接着に及ぼす影響

前述の成績から、TYB-2285は接着抑制作用によりhistamine遊離抑制作用を発揮することが示唆された。そこで、次にアレルギー炎症の際に末梢血中から組織に浸潤する最も代表的な好酸球を用いて本薬物の接着抑制作用について検討した成績について述べる。

臍帯静脈由来血管内皮細胞 (Human umbilical vein endothelial cells; HUVEC) をTumor Necrosis Factor- α (TNF- α)で6時間処置すると、ヒト末梢血好酸球はHUVECに対して接着を起こす。この接着は抗VLA-4抗体で濃度依存的に抑制されるが、抗Mac-1抗体ではあまり抑制されない(Fig.7)。一方、好中球の接着は抗Mac-1抗体で抑制されるが、抗VLA-4抗体では抑制されないことから、好酸球の接着はVLA-4/VCAM-1-selective、好中球の接着はMac-1/ICAM-1-selectiveと考えられる[22]。

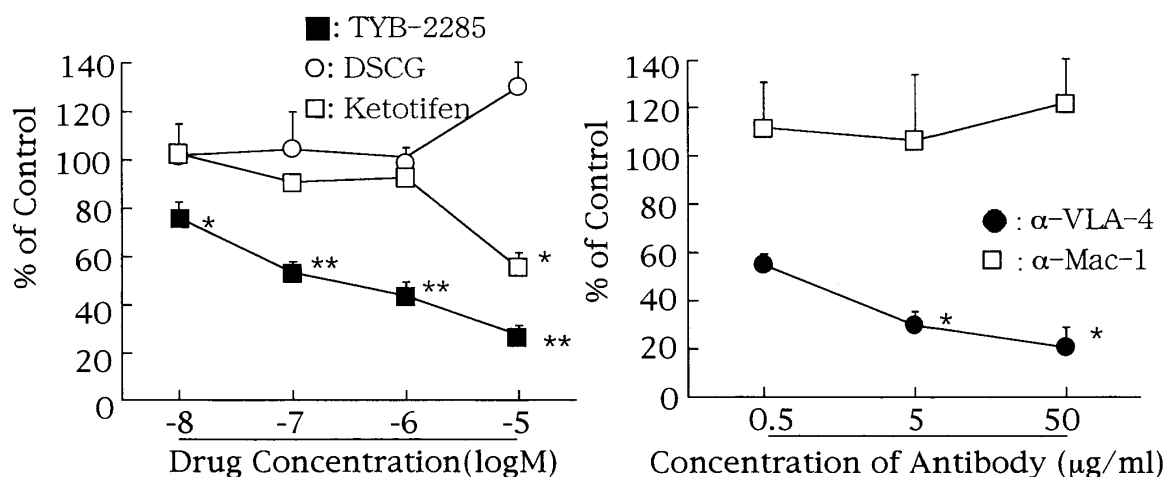


Fig. 8 Effects of TYB-2285, DSCG, ketotifen and anti-adhesion molecule antibodies on adherence of eosinophils to HUVECs (human umbilical vein endothelial cells) stimulated with TNF- α . HUVECs were prestimulated with TNF- α for 6 hr and were allowed to adhere human eosinophils for 15 min in the presence/absence of various drugs or antibodies. Data show mean and SEM of 3-8 experiments. * $p < 0.05$ vs control

TYB-2285は好酸球の接着は抑制する(Fig.8)が、好中球の接着には影響しない(Fig.9)ことから、TYB-2285はVLA-4-selectiveな接着抑制作用を有している[22]ことが示唆されるが、TYB-2285はMac-1を介した好酸球の脱顆粒も濃度依存的に抑制することが近年明らかにされ、その接着抑制作用は必ずしもVLA-4/VCAM-1選択的でないと考えられる。TYB-2285の好酸球接着抑制作用は従来の抗アレルギー薬ではほとんど認められず、極めて興味深い性質であるが、TYB-2285がその経路の接着を抑制するかについては、用いる細胞の種類、刺激の条件により異なるものと考えられる。

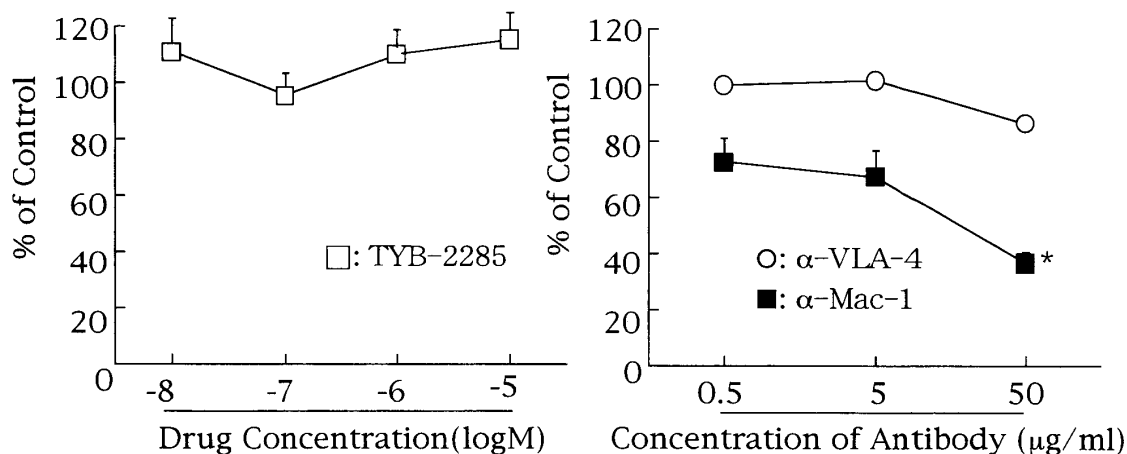


Fig. 9 Effects of TYB-2285 and anti-adhesion molecule antibodies on adherence of neutrophils to HUVECs (human umbilical vein endothelial cells) stimulated with $TNF-\alpha$. HUVECs were prestimulated with $TNF-\alpha$ for 6 hr and were allowed to adhere human neutrophils for 15 min in presence/absence of various drugs or antibodies. Data show mean and SEM of 3-8 experiments. *: $p < 0.05$ vs control

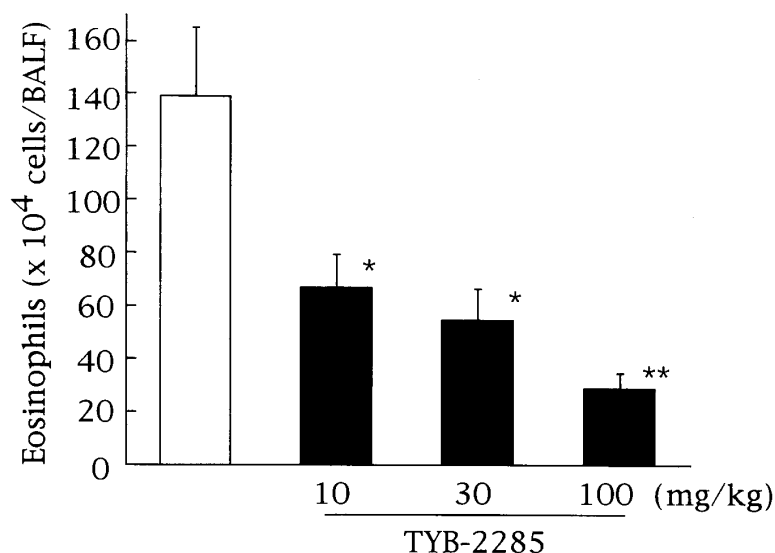


Fig.10 Effect of TYB-2285 on eosinophil accumulation into BAL fluid of sensitized BN rats. BN rats were actively sensitized with ovalbumin and B.pertussis on day 0. On day 11, they were challenged by the antigen inhalation. BAL was performed 24 hr after the challenge. Data show mean and SEM of 8 animals. *, **: $p < 0.05$, 0.01 vs Control

3.2. 抗原誘発による感作ラット気道への好酸球浸潤に及ぼす影響

能動感作したBNラットに感作11日後に抗原吸入させると、吸入24時間後をピークとする遅発型の好酸球浸潤が気道内腔に認められる[23]。この好酸球浸潤モデルを用いてTYB-2285の作用を検討した成績をFig.10に示す。

TYB-2285は10-100 mg/kgの用量で抗原誘発によるラット気道への好酸球浸潤を用量依存的に抑制する[24]。

好酸球浸潤にはマストセル依存性、T細胞依存性の2つの経路が知られているが、本モデルにおける好酸球浸潤は免疫抑制剤Cyclosporin Aにより著明に抑制される[23]が、既存の抗アレルギー薬では抑制されないことから、T細胞依存性であることが示唆されている。

従って、TYB-2285は血管内皮細胞への接着を抑制することにより、好酸球の組織への浸潤を抑制するものと考えられる。

4. 実験的喘息モデルに及ぼすTYB-2285の影響

4.1. ラット即時型気道狭窄反応に及ぼす影響

Donryu系ラットをOAと百日咳死菌により感作し、11日後に抗原を静脈内投与することにより即時型気道狭窄を示す[25]。このモデルを用いてTYB-2285の作用を検討した成績をFig.11に示す。

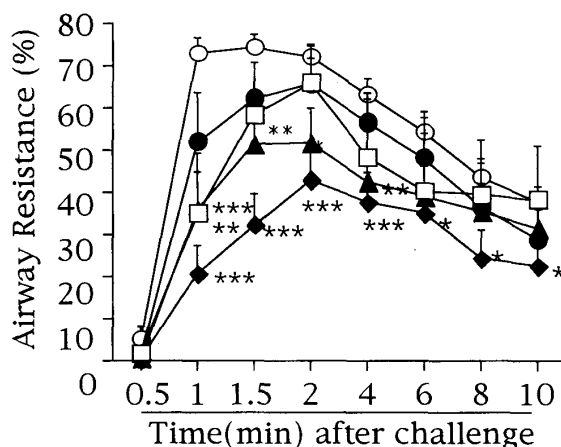


Fig.11 Effects of TYB-2285 and ketotifen fumarate on antigen-induced bronchoconstriction in rats. Drugs were given p.o. 30 min before the antigen challenge. Data are shown as mean and SEM of 5-33 animals. ○: Control, ●: TYB-2285 3mg/kg, ▲: TYB-2285 10 mg/kg, □: Ketotifen 30 mg/kg. *, **, ***: $p < 0.05$, 0.01 , 0.001 vs Control, respectively

TYB-2285は3~30 mg/kgで用量依存的に気道狭窄反応を抑制する。ketotifen (30 mg/kg)は抗原誘発1分後の気道狭窄反応を抑制するが、それ以降の気道狭窄には影響を及ぼさない[26]。

本モデルの気道狭窄反応は血液中のIgE抗体価と高度な相関関係を示す[25]。抗histamine薬であるketotifenは明らかな抑制作用を示さないが、抗serotonin薬であるmethysergideは著明な抑制作用を示し、代表的な抗アレルギー薬であるDSCGが著明な抑制作用を示し、Thromboxane A₂(TxA₂)合成阻害薬OKY-046も有意な抑制作用を示すことから、本気道狭窄反応はIgEを介してマストセルが主としてserotoninやTxA₂を遊離することにより惹起されるものと思われる[25]。従って、本モデルにおけるTYB-2285の気道狭窄反応抑制作用は抗アレルギー作用に基づくものと考えられる。

4.2. ヒツジ遅発型喘息発作および気道過敏性に及ぼす影響

Ascarisに自然感作されたヒツジに抗原を吸入すると、即時型の気道狭窄反応がいったん収まった後に抗原吸入6-

8時間後に遅発型喘息発作が惹起され、抗原吸入24時間後には気道過敏性が認められる[27]。本モデルにおいてTYB-2285の影響を検討した成績をFig.12に示す。

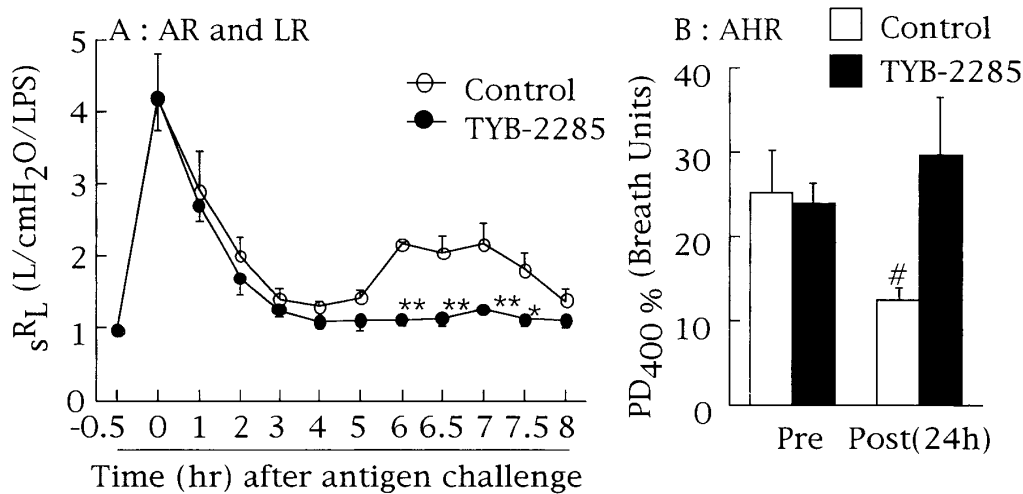


Fig.12 Effect of TYB-2285(100mg/kg) on antigen-induced late bronchial response and airway hyperreactivity in allergic sheep. TYB-2285 was given p.o. 1 hr and 22 hr after the antigen challenge. *, **:p<0.05, 0.01 vs Control, #:p<0.05 vs Pre

TYB-2285は抗原誘発後に100 mg/kgを投与することにより、誘発6-8時間後の遅発型喘息反応を有意に抑制し、かつ誘発24時間後の気道過敏性を著明に改善する[28]。本モデルにおいてTYB-2285は抗原誘発後に投与しており、遅発型喘息反応および気道過敏性の抑制作用は抗アレルギー作用に依存していないと考えられる。Abrahamら[27]は本モデルの発症には好中球ではなく、好酸球が重要であることを明らかにしている。また、Abraham[29]らは抗VLA-4抗体の投与により本モデルにおける遅発型気道狭窄反応及び気道過敏性が著明に抑制されることを報告している。前述した好酸球接着抑制作用、好酸球浸潤抑制作用と考え合わせると、本薬物の抗喘息作用は好酸球の接着抑制作用に基づいているものと考えられる。また、本モデルにおけるTYB-2285の最小有効用量は30 mg/kgと、ラットの抗アレルギー作用の10倍程度高用量が必要であるが、ヒツジは反雑動物であるため、血中濃度が上がりにくいと認められる。本薬物の遅発型気道狭窄反応及び気道過敏性の抑制作用はラット[30]、モルモット[31]でも認められている。

5. 総括

TYB-2285は抗アレルギー作用の他に接着抑制作用を有する興味深い免疫薬理的性質を有する化合物である。ラット及びヒツジを用いた実験的喘息モデルにおいて即時型気道狭窄反応のみならず、遅発型喘息反応及び気道過敏性を抑制して抗喘息作用を発揮することから、喘息治療薬としての可能性が大いに期待される。さらに、マストセル、好酸球は喘息のみならず、他のアレルギー疾患でも重要な役割を果たしており、アレルギー疾患全般の治療薬としてもその可能性は大いに期待される。

引用文献

- 1) Cox J.S.G.(1967) Disodium cromoglycate(FPL670) ('Intal): a specific inhibitor of reaginic

- antibody-antigen mechanisms. *Nature*, **216**, 1328-1329.
- 2) Koda A., Nagai H., Watanabe S., Yanagihara Y. and Sakamoto K. (1976) Inhibition of hypersensitivity reactions by a new drug, N(3', 4'-dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid(N-5'). *J. Allergy Clin. Immunol.* **57**, 396-407.
 - 3) Chasin M., Scott C., Shaw C. and Persico F. (1979) A new assay for the measurement of mediator release from rat peritoneal mast cells. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **58**, 1-10.
 - 4) Hegardt B. (1983) Pharmacological modulation of mediator release : therapeutic significance? *Eur. J. Respir. Dis. Suppl.*, **129**, 112-147.
 - 5) Hamawy M. M., Oliver C., Mergenhagen S. E. and Siraganian R. P. (1992) Adherence of rat basophilic leukemia cells to fibronectin-coated surfaces enhances secretion. *J. Immunol.* **149**, 615-621.
 - 6) Adachi Y., Ebi Y., Nishikawa S., Hayashi S., Yamazaki M., Kasugai T., Yamamura T., Nomura S. and Kitamura Y. (1992) Necessity of extracellular domain of W(c-kit)receptors for attachment of murine cultured mast cells to fibroblast. *Blood.* **79**, 650-656.
 - 7) Watanabe A., Tominaga T., Shutoh H., Hayashi H., Tsuji J., Koda A., Nagai H., Kumazawa Y. and Shimada H. (1997) Effect of TYB-2285 on passive cutaneous anaphylaxis in rats. *Gen. Pharmacol.* **28**, 311-315.
 - 8) Yasuda M., Hasunuma Y., Adachi H., Sekine C., Sakanishi T., Hashimoto H. , Ra C., Yagita H. and Okumura K. (1995) Expression and function of fibronectin binding integrins on rat mast cells. *Int. Immunol.* **7**, 251-258.
 - 9) Hirai K., Morita Y., Misaki Y., Ohta K., Takaishi T., Suzuki S., Motoyoshi K., and Miyamoto T. (1988) Modulation of human basophil histamine release by hemopoietic growth factors. *J.Immunol.* **141**, 3958-3964.
 - 10) Kurimoto Y., Weck A. L. and Dahinden C. A. (1989) Interleukin 3-dependent mediator release in basophils triggered by C5a. *J.Exp.Med.* **170**, 467-479.
 - 11) Schleimer R. P., Derse C. P., Triendman B., Gillis S., Plaut M., Lichtenstein L. M., and Macglashan D. W. (1989) Regulation of human basophil mediator release by cytokines. *J. Immunol.* **143**, 1310-1317.
 - 12) Lebel B., Schneider E., Piquet-Pellorce C., Machavoine F., Kindler V., Luffau G. and Dy M. (1990) Antigenic challenge of immunized mice induces endogenous production of IL-3 that increase histamine synthesis in hematopoietic organs. *J. Immunol.* **145**, 1222-1226.
 - 13) Watanabe A., Tominaga T., Hayashi H., Yanagihara Y. and Koda A. (1993) Effect of TYB-2285 on antigen-induced histamine release from mouse bone marrow-derived persisting cells (p-cells) primed with interleukin 3-containing conditioned medium(IL3-CM). *Gen. Pharmacol.* **24**, 1207-1211.
 - 14) Burd P. R., Rogers H. W., Gordon J. R., Martin C. A., Jayaraman S., Wilson S. D., Dvorak A. M., Galli S. J. and Dorf M. E. (1989) Interleukin 3-dependent and -independent mast cells

- stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. *J. Exp. Med.* 170, 245-257.
- 15) Fillipowicz A.W., Heusser C.H. and Moroni C. (1989) Production of the haematopoietic growth factors GM-CSF and interleukin-3 by mast cells in response to IgE receptor-mediated activation. *Nature* 339, 150-152.
 - 16) Plaut M., Pierce J. H., Watson C. J., Hanley-Hyde J., Nordan R. P. and Paul W. E. (1989) Mast cell lines produce lymphokines in response to cross-linkage of Fc ϵ RI or to calcium ionophores. *Nature* 339, 64-67.
 - 17) Schleimer R. P., Dersc C. P., Friendman B., Gillis S., Paul M., Lichtenstein L. M. and Macglashan D. W. (1989) Regulation of human basophil mediator release by cytokines. *J. Immunol.* 143, 1310-1317.
 - 18) Tominaga T., Watanabe A., Hayashi H., Yanagihara Y., and Koda A. (1993) Effect of TYB-2285 on histamine release from human basophils in the presence/absence of IL-3. *Gen. Pharmacol.* 24, 345-348.
 - 19) Watanabe A., Tominaga T., Tsuji J., Yanagihara Y. and Koda A. (1992) Effects of anti-CD11a, anti-CD11b and anti-CD18 on histamine release from human basophils primed with IL-3. *Gen. Pharmacol.* 98, 308-310.
 - 20) Bochner C. S, Mc Kelvey A. A., Sterbinsky S. A., Hilderth J. E. K., Derse C. P., Klunk D. A., Lichtenstein L.M. and Schleimer R. P.(1990) IL-3 augments adhesiveness for endothelium and CD11b expression in human basophils but not neutrophils. *J. Immunol.* 145, 1832-1837.
 - 21) Sakaguchi N., Saito H. and Iikura Y. (1992) The stimuli releasing histamine from bone-marrow-derived mast cells(BMMC) 3. Effect of coculture with 3T3 fibroblasts on histamine releasability of BMMC. *Jap. J. Allergol.* 41, 519-525.
 - 22) Tominaga T., Watanabe A., Noma S., Tsuji J. and Koda A. (1996) Effects of TYB-2285 and its metabolites on eosinophil adhesion to tumor necrosis factor α -stimulated human umbilical vein endothelial cells. *Allergol. Int.* 45, 91-96.
 - 23) Tominaga T., Watanabe A., Tsuji J., Hayashi H. and Koda A. (1995) A similarity and a difference between two models of late eosinophil accumulation into the airway induced by antigen exposure in actively sensitized Brown Norway (BN) rats. *Gen. Pharmacol.* 26, 353-356.
 - 24) Tominaga T., Watanabe A., Tsuji J., Hayashi H., Koda A., Nagai H., Kumazawa Y. and Shimada H. (1997) Effect of TYB-2285 on eosinophil accumulation into the airway induced by antigen exposure in actively sensitized Brown Norway(BN) rats. *Gen. Pharmacol.*, 28, 301-303.
 - 25) Watanabe A. and Hayashi H. (1990) Allergen-induced biphasic bronchoconstriction in rats. *Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol.* 93, 26-34.
 - 26) Watanabe A., Tominaga T., Shutoh H., Hayashi H., Tsuji J., Koda A., Nagai H., Kumazawa Y. and Shimada H. (1997) Effect of TYB-2285 on lung anaphylaxis in actively sensitized rats. *Gen. Pharmacol.* 28, 311-315.
 - 27) Abraham W. M., Delehunt J. C., Yerger L., Marchette B. (1983) Characterization of a late

- phase pulmonary response following antigen challenge in allergic sheep. *Am. Rev. Respir. Dis.* 128, 839-844.
- 28) Abraham W. M., Ahmed A., Cortes A., Sielczak A. and Watanabe A. (1996) Effect of TYB-2285 on antigen-induced airway responses in sheep. *Pul. Pharmacol.* 9, 49-58.
- 29) Abraham W. M., Sielczak M. W., Ahmed A., Cortes A., Lauredo I. T., Kim J., Pepinsky B., Benjamin C. D., Leone D. R., Lobb R. R., Weller P. F. (1994) alpha4-integrin mediate antigen-induced late bronchial responses and prolonged airway hyperresponsiveness. *J. Clin. Invest.* 93, 776-787.
- 30) Tanimukai K., Ihaku D., Matsuyama T. (1995) The importance of adhesion molecule, VLA-4 in bronchial asthma. *Jap. J. Thor. Dis.* 33, 1240-1249.
- 31) Muraki M., Toda Y., Sugihara R., Nagasaka Y. and Nakajima S. (1994) The effect of TYB-2285 on dual phase bronchoconstriction and airway hypersensitivity in guinea pigs actively sensitized with ovalbumin. *J. Pharm. Pharmacol.* 46, 883-886.