

抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用に関する研究

松永, 和久
九州大学薬学研究科医療薬学専攻

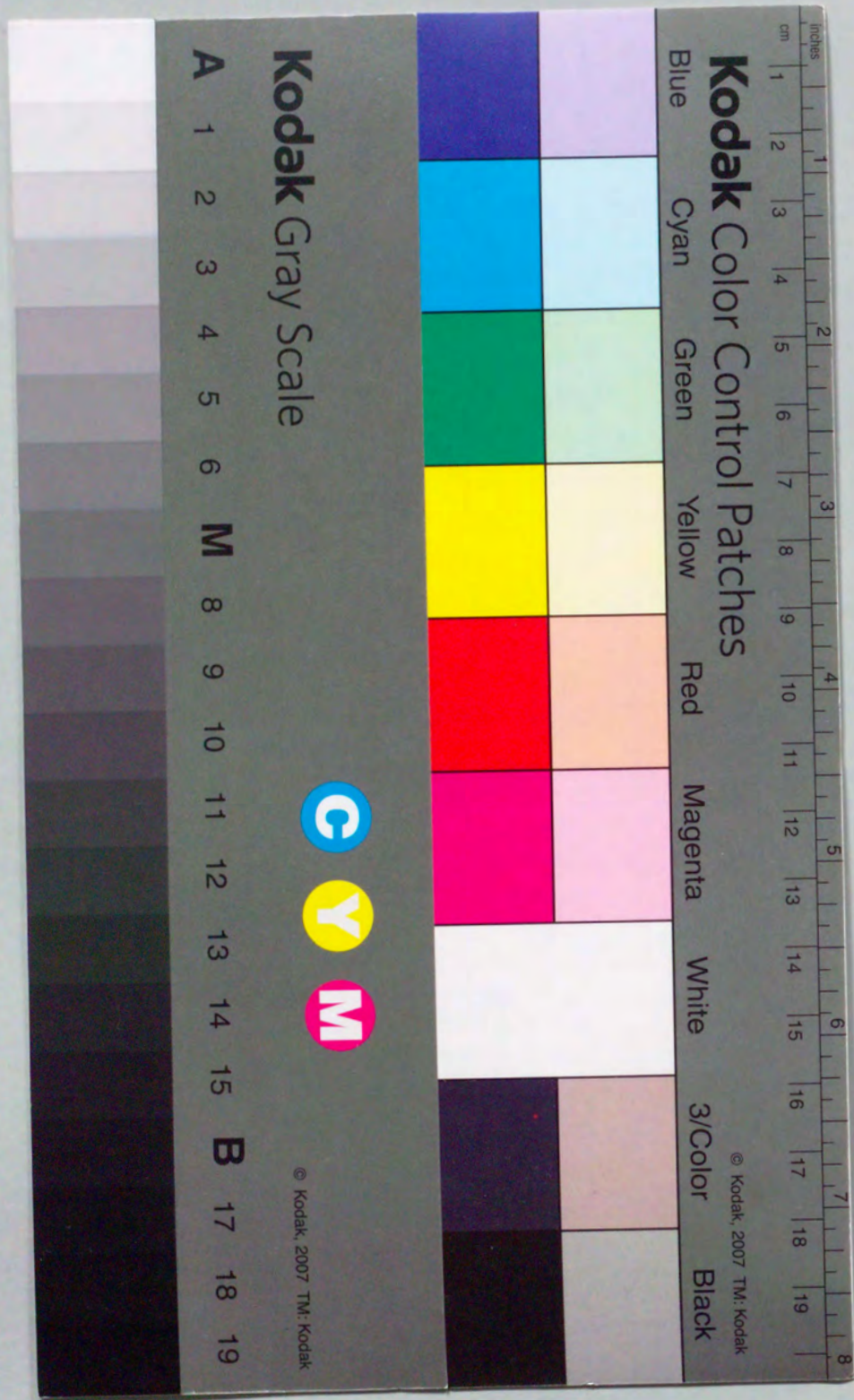
<https://doi.org/10.11501/3134987>

出版情報 : 九州大学, 1997, 博士 (薬学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

抗アレルギー薬のモノアミン
取り込み阻害作用に関する研究

1998

松永和久



抗アレルギー薬のモノアミン
取り込み阻害作用に関する研究

1998

松永和久

目次

緒論	1
第1章 抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用 (in vitro).....	6
1. 実験材料ならびに実験方法.....	6
1.1. 使用動物	6
1.2. 使用薬物	6
1.3. モノアミン取り込み実験	7
1.3.1. 試料作製.....	7
1.3.2. 実験方法.....	7
1.4. dopamine transporter 結合実験.....	10
1.4.1. 試料作製.....	10
1.4.2. 実験方法.....	10
2. 実験成績.....	12
2.1. モノアミン取り込み阻害作用	12
2.1.1 予備的実験.....	12
2.1.2. [³ H]dopamine, [³ H]norepinephrine および[³ H]serotonin 取り込み特性.....	14
2.1.3. dopamine 取り込みに対する抗アレルギー薬の作用	17
2.1.4. norepinephrine 取り込みに対する抗アレルギー薬の作用	18
2.1.5. serotonin 取り込みに対する抗アレルギー薬の作用.....	19
2.2. dopamine transporter 結合実験.....	21
3. 考察.....	23
4. 小活.....	26
第2章 dopamine 取り込み阻害作用の行動薬理学的検証	27
1. 実験材料および方法.....	27
1.1. 使用動物	27
1.2. 使用薬物	27
1.3. L-dopa および pargyline 誘発興奮行動に対する作用	28
1.3.1. 薬物投与	28
1.3.2. マウスの興奮行動の評価法.....	28
1.4. apomorphine による自発運動量高進に対する影響.....	28
1.4.1. 薬物投与.....	28
1.4.2. 運動量の測定	29
1.5. catalepsy の測定.....	29

1.5.1. 薬物投与.....	29
1.5.2. 実験方法.....	29
1.6. 統計処理.....	29
2. 実験成績.....	30
2.1. L-dopa および pargyline 誘発興奮行動に対する作用.....	30
2.1.1. 予備的実験.....	30
2.1.2. L-dopa および pargyline 誘発興奮行動に対する抗ヒスタミン薬の作用..	32
2.1.3. L-dopa および pargyline 誘発興奮行動に対する抗アレルギー薬の作用..	33
2.2. apomorphine 誘発性自発運動量高進に対する影響.....	34
2.3. haloperidol 誘発 catalepsy に及ぼす oxatomide および ebastine の影響.....	36
2.3.1. ebastine の影響.....	36
2.3.2. oxatomide の単回および連続投与の影響.....	38
3. 考察.....	41
4. 小活.....	43
第3章 ラットにおける norepinephrine 血圧上昇反応に及ぼす ebastine の影響.....	45
1. 実験材料および方法.....	45
1.1. 使用動物.....	45
1.2. 使用薬物.....	45
1.3. 血圧測定.....	46
1.4. 解析.....	46
2. 実験成績.....	46
3. 考察.....	48
4. 小活.....	48
総括.....	49
参考文献.....	52
本研究内容の発表および発表予定論文.....	55
謝辞.....	56

略語一覧

本論文においては下記の略語を用いた。

DA	dopamine
NE	norepinephrine
5-HT	serotonin (5-hydroxytryptamine)
CMC	carboxymethylcellulose
GOT	glutamic oxaloacetic transaminase
GPT	glutamic pyruvic transaminase

緒論

本来は生体内に侵入した微生物やウイルスのような非自己物質を認識し排除するといった生体防御のために働く免疫反応が、組織や細胞の破壊を伴った炎症反応として生体へ悪影響を及ぼすことがある。これをアレルギー反応と言い、この反応に基づくアレルギー性疾患の患者は特に最近増加しているといわれている。アレルギー(allergy)とはギリシャ語の allos (other) と ergon (reaction) を語源とし、“変化した反応能力”(一度目の接触と異なった反応)を意味するものである。アレルギーは Coombs and Gell (1975) により I~IV 型に分類されており、この分類には異論もあるが、アレルギーを説明するには便利であるためよく使われている。I~III 型は免疫グロブリンの関与(体液性免疫)によるもので、IV 型は T 細胞やマクロファージの関与(細胞性免疫)によるものである。I~III 型は反応が生じるのが比較的早く、即時型と呼ばれるのに対して、IV 型アレルギーは反応が生じるのが遅いため遅延型アレルギーとも言われている。喘息、蕁麻疹、アレルギー性鼻炎など抗アレルギー薬の適応となる疾患は I 型アレルギーに分類される。

肥満細胞からのヒスタミン遊離が古くから I 型アレルギーの原因の 1 つとして知られており、ヒスタミン H_1 受容体の選択的拮抗薬が I 型アレルギー疾患に使われてきた。 H_1 受容体遮断薬(抗ヒスタミン薬)には主作用である H_1 受容体の選択的拮抗作用以外に局所麻酔作用、抗ムスカリン作用(眼圧上昇、頻脈、口渇)、抗アドレナリン作用(起立性低血圧)および抗セロトニン(5-HT)作用(食欲増進、制吐作用)などを示すものがあり、抗ヒスタミン薬の主作用および副作用に関係している。その他の作用として、抗ヒスタミン薬にモノアミン取り込み阻害作用があることが *in vitro* 実験で報告されてきた (Coyle and Snyder, 1969; Lidbrink et al., 1971; Brown and Vernikos, 1980; Tuomisto and Tuomisto, 1980; Young et al., 1988)。この作用は、マウス脳のモノアミン代謝回転の抑制を指標とした *in vivo* 実験でも認められている (Shishido et al., 1991; Oishi et al., 1994)。抗ヒスタミン薬

のモノアミン取り込み阻害作用の行動薬理的検証として、chlorpheniramine がマウスの 5-hydroxytryptophan 誘発性首振り運動 (head twitch) を増強することが報告されている (Rogóz et al., 1981)。また、Suzuki et al. (1990, 1991) は place preference test で tripeleminamine により morphine や pentazocine の place preference 作用が増強され、これがドパミン (DA) D_1 受容体遮断薬で抑制されることを報告している。pentazocine と tripeleminamine の併用は “T's and blues” と呼ばれ、かつて乱用されたことがあり (Showalter and Moore, 1978; Butch et al., 1979)、抗ヒスタミン薬におそらく DA を介したこのような作用があることは注意しておく必要がある。

1958 年英国の Fisons 社研究所において抗ヒスタミン作用とは別の作用機序で I 型アレルギー疾患に効果を示す disodium cromoglycate が開発され、化学伝達物質遊離抑制を作用機序とする各種抗アレルギー薬が開発されるようになった。抗アレルギー薬とは I 型のアレルギー反応を抑制する薬物の総称であり、国際的分類としては十分に認知されていないが我が国では一般的呼称である。すなわち、肥満細胞からの化学伝達物質遊離抑制、化学伝達物質合成酵素阻害、受容体拮抗などの作用機序によって I 型アレルギーを代表する疾患である気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎などの種々の症状を抑制する薬物である。抗アレルギー薬はその化学的性質により酸性抗アレルギー薬と塩基性抗アレルギー薬に分類される。disodium cromoglycate や tranilast および pemirolast は酸性抗アレルギー薬に分類され、これらは抗ヒスタミン作用を持たない。それに対して、astemizole、azelastine、ebastine、emedastine、epinastine、ketotifen、oxatomide、および terfenadine などの塩基性抗アレルギー薬は抗ヒスタミン作用を持ち、欧米では抗ヒスタミン薬に分類されている。

抗アレルギー薬の副作用として頻度は低いが、発疹などの過敏症、口渇、悪心および嘔吐といった消化器系症状、動悸および浮腫といった心臓血管系症状および GOT, GPT 上昇の肝機能異常などがある。また、精神神経系の副作用として、眠気、倦怠感および頭痛などの症状が現れることがある。重大な副作用

として、astemizole および terfenadine には QT 期延長、心室性不整脈あるいは心停止などの重篤な副作用が報告されている。また、ketotifen ではまれに痙攣、興奮が現れることがあり (Yokoyama et al., 1993)、oxatomide では過量投与による錐体外路系症状の発現が報告されている (Daele et al., 1986; Imiya, 1992)。本研究の対象とした抗アレルギー薬の特性を Table 1 に、構造式を Fig. 1 にまとめた。

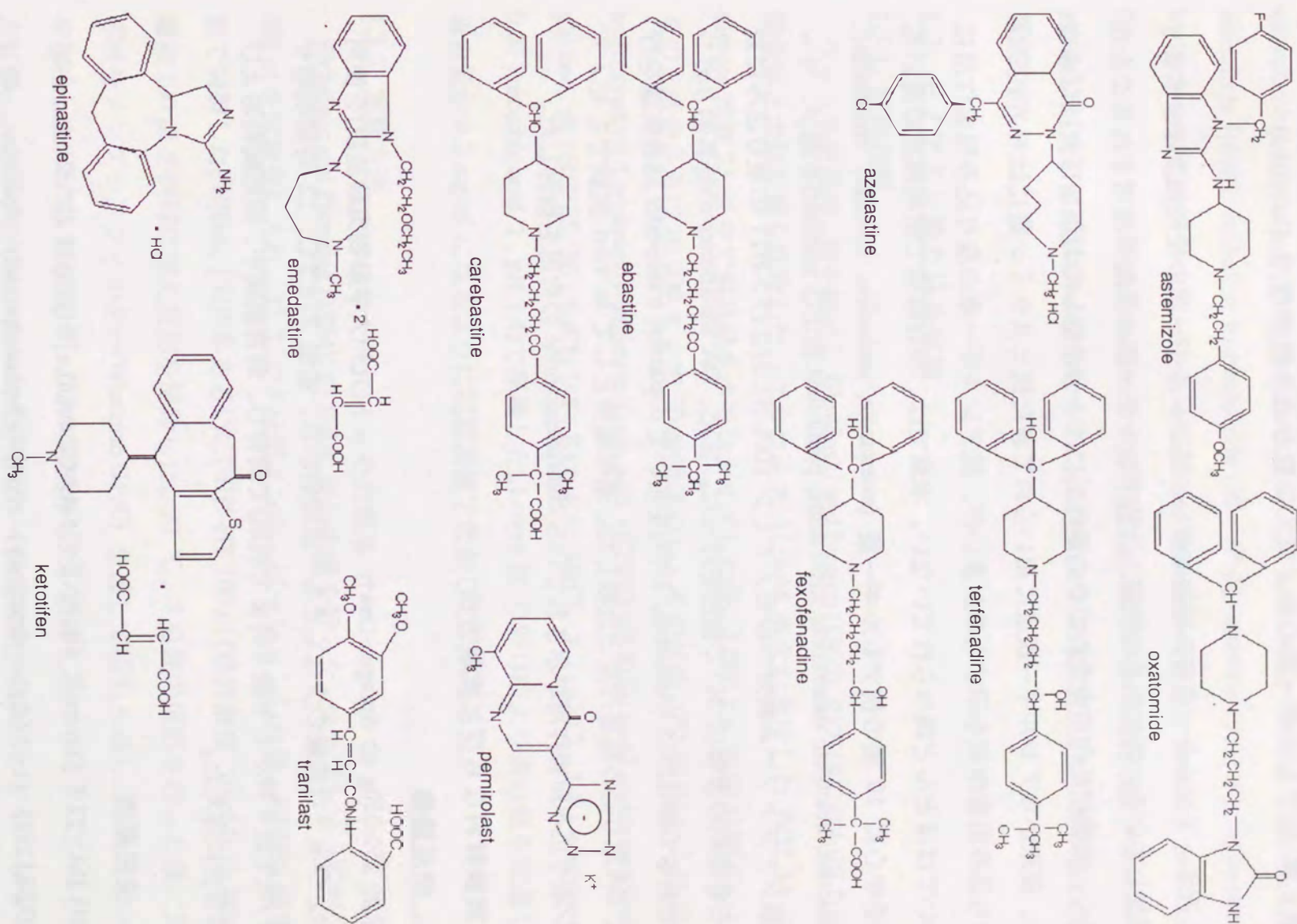
抗アレルギー薬の抗ムスカリン作用、抗アドレナリン作用、抗 5-HT 作用および抗 DA 作用などの受容体拮抗作用については基礎的検討が行われている (Laduron et al., 1982; Awouters et al., 1983; Leysen and Gommeren, 1986; Fügner et al., 1988)。しかし、抗ヒスタミン薬において知られているモノアミン取り込み阻害作用についてはほとんど調べられていない。モノアミン受容体拮抗作用と取り込み阻害作用は神経機能に対して相反する作用であり、これを明らかにすることは抗アレルギー薬の薬理作用の理解を深め、副作用を予測し、さらに併用による有害な相互作用を防止するために重要であると考えられる。そこで、抗アレルギー薬のモノアミン取り込みに対する作用を *in vitro* および *in vivo* 実験により明らかにするために本研究を企てた。

Table 1
抗アレルギー薬の薬理学的特性

一般名	遊離抑制		拮抗作用					備考・副作用				
	LT	HA	LT	PAF	HA	BK	M	α_1	β	DA	5-HT ₂	
塩基性抗アレルギー薬												
astemizole	○	○	○	○	○	○	-	±	-	-	+	QT期延長、汎血球減少症
azelastine	○	○	○		○	○	±				±	
ebastine							-	-	-	-	-	
(carebastine)	○	○			○		-	-	-	-	-	ebastineの活性代謝物
epinastine	○	○	○	○	○	○	-	+		-	+	
emedastine					○		-					
ketotifen	○	○		○	○	×	-				-	けいれん、興奮
oxatomide	○	○	○	○	○	○	-	-		+	+	錐体外路系症状、肝機能障害
terfenadine	○	○	○	○	○		-	-	-	-	-	QT期延長、ショック、 血液-脳関門を通過しにくい terfenadineの活性代謝物
(fexofenadine)	○	○			○							
酸性抗アレルギー薬												
pemiroloast	○	○	×	×	×							
tranilast	○	○	×	×	×		-				-	膀胱炎症状、肝機能障害

HA: ヒスタミン, LT: ロイコトリエン, PAF: 血小板活性化因子, M: ムスカリン,
 α : アドレナリン α , β : アドレナリン β , DA: ドパミン, 5-HT: セロトニン, BK: ブラジキニン
 ○: 作用有り, ×: 作用無し +: 中程度, ±: 弱い, -: ほとんど無い (複数の文献を基に総合的に判定した)

Fig. 1 抗アレルギー薬の構造式



第1章 抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用 (in vitro)

近年、アレルギー患者の増加に伴い、抗アレルギー薬の使用頻度はますます増加している。特に疾患の性質上、抗アレルギー薬は長期間連用されることが多く、薬物相互作用を含めてその副作用には十分注意しておかなければならない。従来からアレルギー疾患に用いられてきた抗ヒスタミン薬にはモノアミン取り込み阻害作用を示すものが多いが、抗アレルギー薬の取り込み阻害作用についてはほとんど調べられていない。本章では、現在臨床で使用頻度の高いものを中心に10種の抗アレルギー薬 (astemizole, azelastine, ebastine, emedastine, epinastine, ketotifen, oxatomide, terfenadine, pemirolast および tranilast) を選び、ラット脳シナプトソーム画分へのモノアミン (DA, NE および 5-HT) の取り込みに対する各薬剤の影響について検討を行った。また、DA transporter の特異的リガンドである GBR12935 (Andersen, 1987) を用いて dopamine transporter 結合実験を行い、DA 取り込み阻害作用と比較した。基準薬物として in vivo 実験でもモノアミン取り込み阻害作用が示されている chlorpheniramine の作用を検討した。

1. 実験材料ならびに実験方法

1.1. 使用動物

体重 250-350g の Sprague-Dawley 系雄性ラット(九州大学動物実験施設)を使用した。ラットは実験の少なくとも一週間前から、室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、12 時間明暗サイクル(午前6時から午後6時まで明期)で飼育し、飼育期間中、固形飼料および水は自由に与えた。

1.2. 使用薬物

$[^3\text{H}]$ DA (22.2 Ci/mmol), $[^3\text{H}]$ NE (55.49 Ci/mmol), $[^3\text{H}]$ 5-HT (27.5 Ci/mmol), $[^3\text{H}]$ GBR12935 (1-[2-(diphenylmethoxy) ethyl]-4-(3-phenylpropyl) piperazine, 40.0 Ci/mmol) は Dupont-NEN (Boston, MA, USA) より購入した。GBR12909 (1-[2-[bis(4-fluorophenyl) methoxy] ethyl]-4-(3-phenylpropyl) piperazine dihydrochloride),

chlorpheniramine maleate は Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) より購入した。astemizole (持田), azelastine hydrochloride (エーザイ), ebastine (大日本), epinastine hydrochloride (日本ベーリンガー), emedastine difumarate (鐘紡), ketotifen fumarate (ノバルティスファーマ), oxatomide (協和醗酵), terfenadine (塩野義), pemirolast potassium (東京田辺), tranilast (キッセイ) はそれぞれの製薬会社より提供された原末を用いた。

1.3. モノアミン取り込み実験

1.3.1. 試料作製

ラットを断頭後、脳を摘出し Glowinski and Iversen (1966) の方法に従い直ちに線条体と大脳皮質を採取した。グルコース 11 mM を含む氷冷した 0.32 M の sucrose 溶液 25 ml 中で脳組織をホモジナイズした後、1,000 x g で10分間遠心し、その上清をさらに 10,000 x g で20分間遠心し、その沈渣 (P2 画分) を 2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethanesulfonic acid (HEPES) 緩衝液 (mM concentrations: glucose, 10; HEPES, 20; NaCl, 145; KCl, 4.5; MgCl_2 , 1.2; CaCl_2 , 1.5; pargyline, 0.01; ascorbic acid, 1, pH 7.4) で懸濁した。Lowry 法 (1951) により蛋白量を定量し、蛋白量が 0.2 mg/ml になるように同緩衝液で希釈して試料とした。

1.3.2. 実験方法

Richelson and Pfenning (1984) の方法に従い実験を行った。シナプトソーム画分 800 μl を試験管に入れ、 37°C で5分間インキュベーションした後、HEPES 緩衝液で調製した $[^3\text{H}]$ DA、 $[^3\text{H}]$ NE あるいは $[^3\text{H}]$ 5-HT 100 μl (最終濃度 10 nM) と被検薬液 100 μl を同時に加え反応を開始した。 37°C 、5分間の反応を行った後、反応液をメンブランフィルター (Whatman GF/C) を通して吸引ろ過し、フィルターを氷冷した HEPES 緩衝液 2 ml で3回洗浄した。洗浄したフィルターをバイアルに移し、ACS-II 10 ml (Amersham) を加え、一晩放置後、液体シンチレーションカウンター (ALOCA LSC-1000) で放射活性を測定した。なお 0°C の条件下で得られた放射活性を非特異的結合の放射活性とした (Fig. 1-1.)。

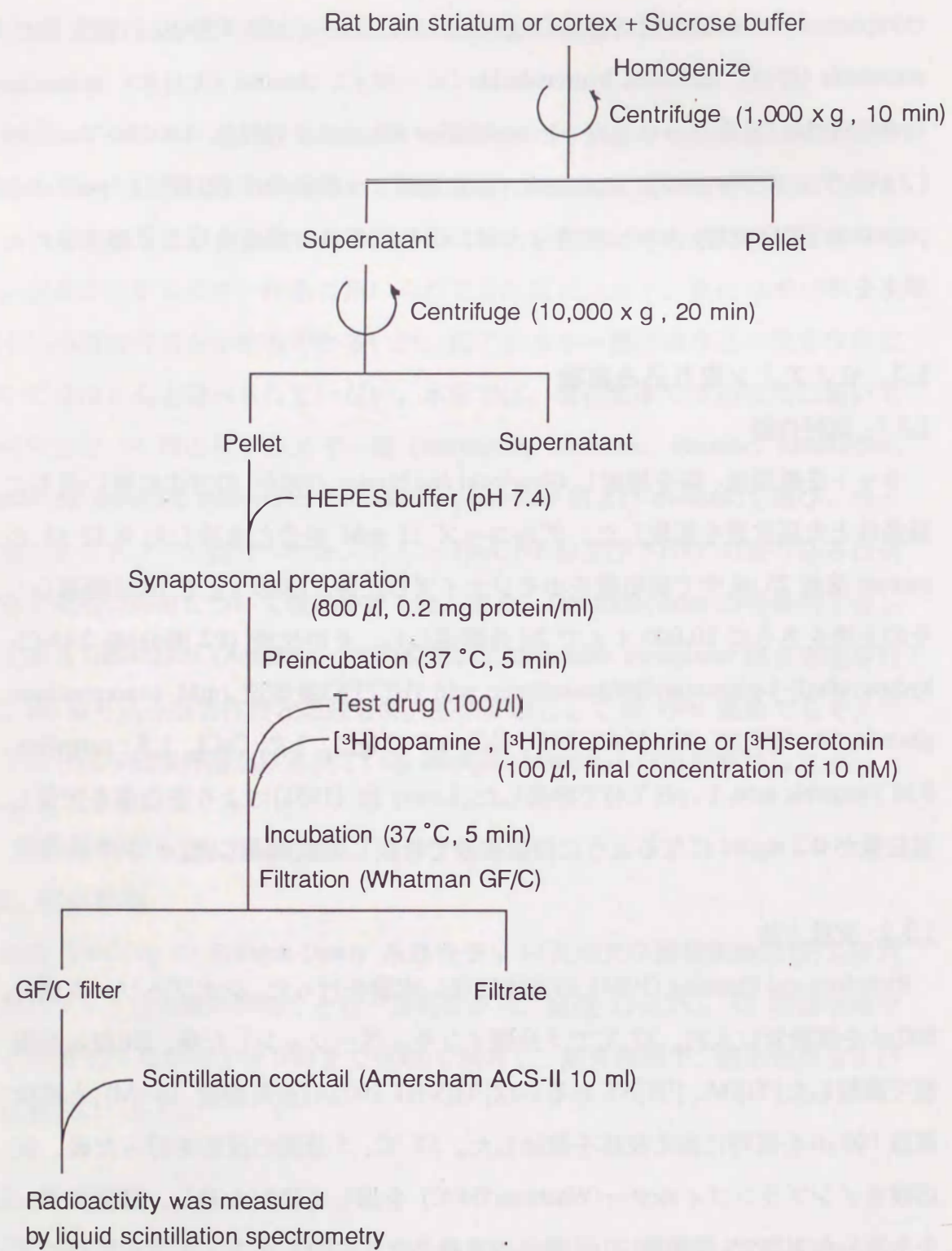


Fig.1-1. Synaptosomal preparation and monoamine uptake assay

薬物濃度 (x) と取り込み率 (y) の結果を DeltaGraph PRO3 (DeltaPoint, Monterey, CA, USA)を用いて処理し阻害曲線を作成し、同時に IC_{50} を求めた(Eq. 1-1)。さらに Eq. 1-2 を用いて各薬物の inhibition constant (K_i 値)を算出した (Cheng and Prusoff, 1973)。また、 $\log[x]$ に対して $\log(y/100-y)$ をプロットし、得られた直線の勾配を Hill 係数とした(Eq. 1-3)。

$$\text{Eq. 1-1} \quad y = \frac{k}{1 + a \cdot \exp(-bx)} \quad \text{Eq. 1-2} \quad IC_{50} = K_i \left(1 + \frac{[S]}{K_m} \right)$$

$$\text{Eq. 1-3} \quad \log \frac{y}{100-y} = -n \log [x] - \log K_m$$

x : drug concentration, y : uptake rate, IC_{50} : concentration causing 50% inhibition,

K_i : inhibition constant, [S] : concentration of substance (monoamine),

K_m : Michaelis-Menten constant for transport process, n : Hill coefficient

1.4. dopamine transporter 結合実験

1.4.1. 試料作製

ラットを断頭後、脳を摘出し Glowinski and Iversen (1966) の方法に従い直ちに線条体を採取した。NaCl 120 mM と MgCl₂ 4 mM を含む氷冷した 50 mM の Tris-citrate 緩衝液 25 ml 中で線条体をホモジナイズした後、45,000 x g で 20 分間遠心し、沈渣を -80 °C で保存した。少なくとも一晩以上 -80 °C で保存した後、ラット脳ホモジネートを Tris-citrate 緩衝液に再懸濁し、45,000 x g で 20 分間遠心した。この操作を 3 回繰り返した後、Lowry 法により蛋白量を定量し、蛋白量が 0.2 mg/ml になるように同緩衝液で希釈して試料とした (Fig. 1-2)。

1.4.2. 実験方法

Nakachi et al. (1995)の方法に従い実験を行った。シナプトソーム画分 800 μl を試験管に入れ、さらに Tris-citrate 緩衝液で調製した [³H] GBR12935 100 μl (最終濃度 1 nM) と被検薬液 100 μl を同時に加え反応を開始した。0 °C、60 分間の反応を行った後、反応液をメンブランフィルター (Whatman GF/C) を通して吸引ろ過し、フィルターを氷冷した生理食塩液 2 ml で 3 回洗浄した。洗浄したフィルターをバイアルに移し、ACS-II 10 ml (Amersham) を加え、一晩放置後、液体シンチレーションカウンター (ALOCA LSC-1000) で放射活性を測定した。なお 30 μM の GBR12909 存在下で得られた放射活性を非特異的結合の放射活性とした。

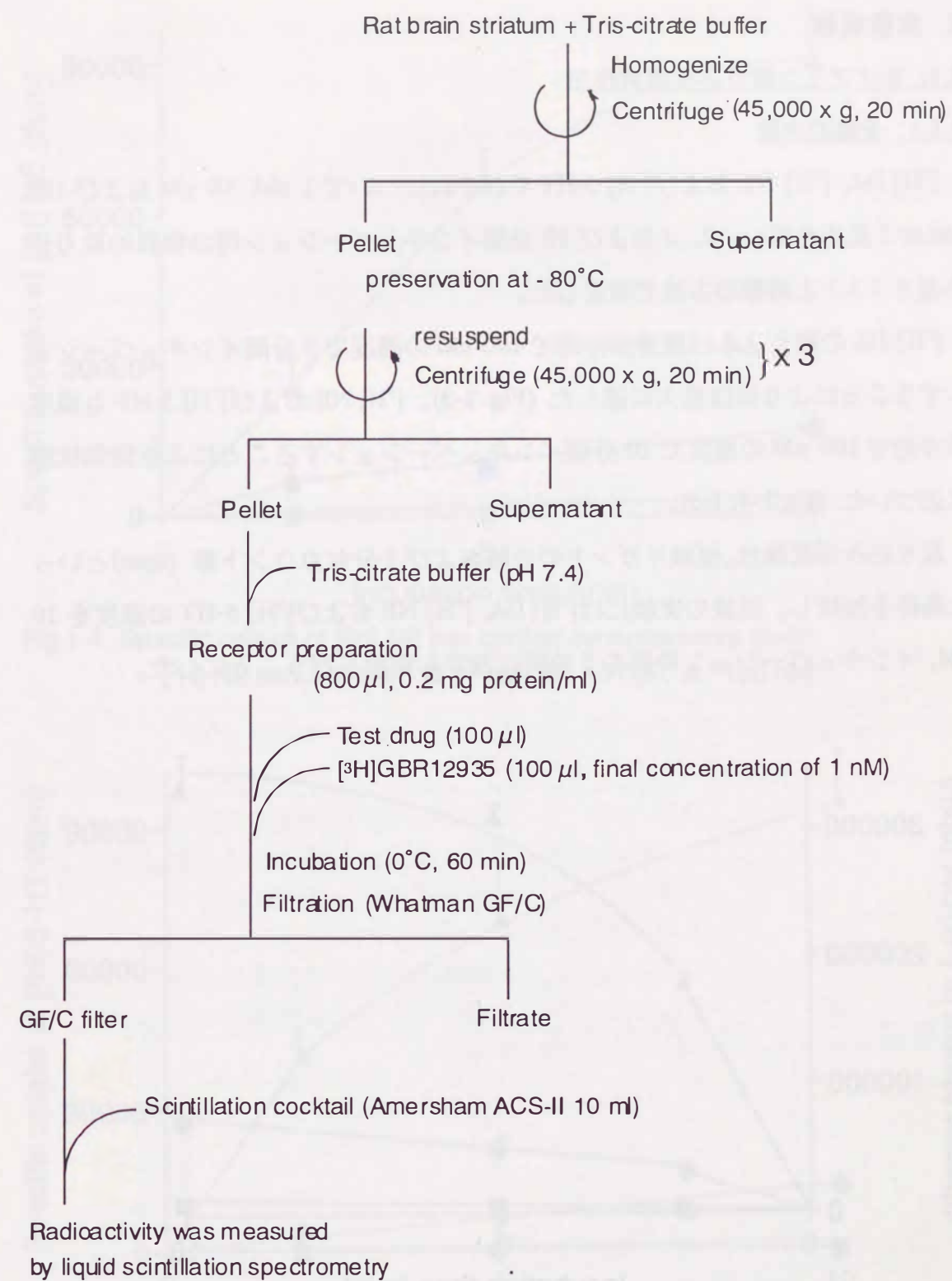


Fig.1-2. Synaptosomal preparation and DA transporter binding assay

2. 実験成績

2.1. モノアミン取り込み阻害作用

2.1.1. 予備的実験

[³H] DA, [³H] NE および [³H] 5-HT それぞれについて 1 nM, 10 nM および 100 nM の 3 濃度を用い、2、5 および 10 分間インキュベーション時の特異的取り込み量を 1.3.2 と同様の方法で測定した。

[³H] DA の取り込みは濃度依存的で 100 nM の濃度で 5 分間インキュベーションすることによりほぼ最大に達した (Fig. 1-3)。 [³H] NE および [³H] 5-HT も濃度依存的で 100 nM の濃度で 10 分間インキュベーションすることにより飽和状態に近づいた (Fig. 1-4, 1-5)。

取り込みの直線性、標識リガンドの分解および十分なカウント数 (dpm) といった条件を加味し、以後の実験には [³H] DA, [³H] NE および [³H] 5-HT の濃度を 10 nM, インキュベーション時間を 5 分間に設定し実験を行うことにした。

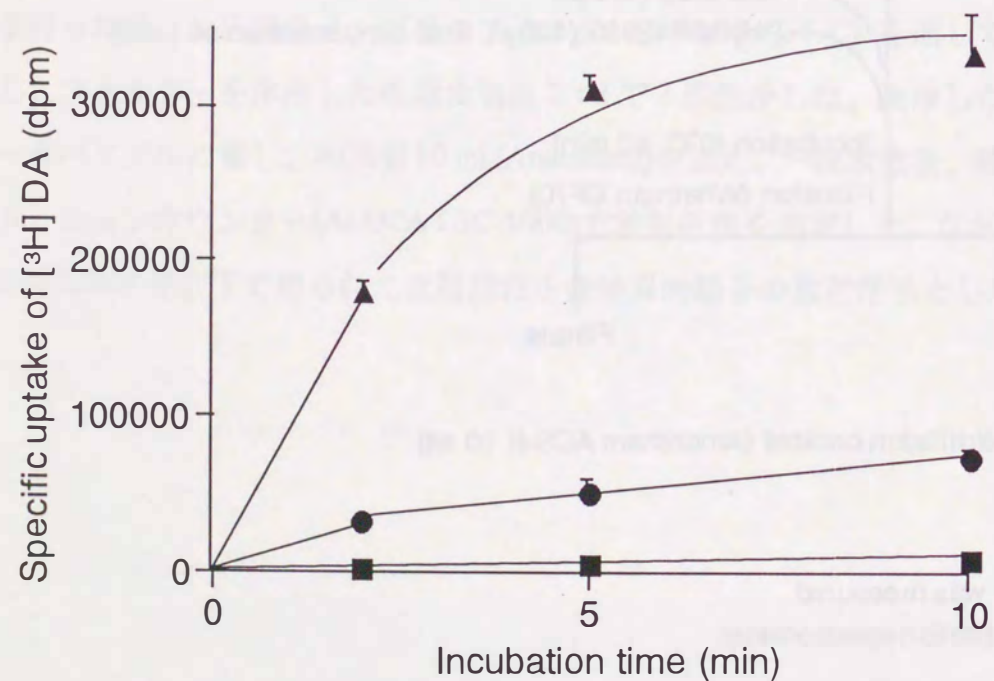


Fig.1-3. Specific uptake of [³H] DA into rat striatal synaptosomes (n=3)
[³H] DA concentration ■: 1 nM, ●: 10 nM, ▲: 100 nM

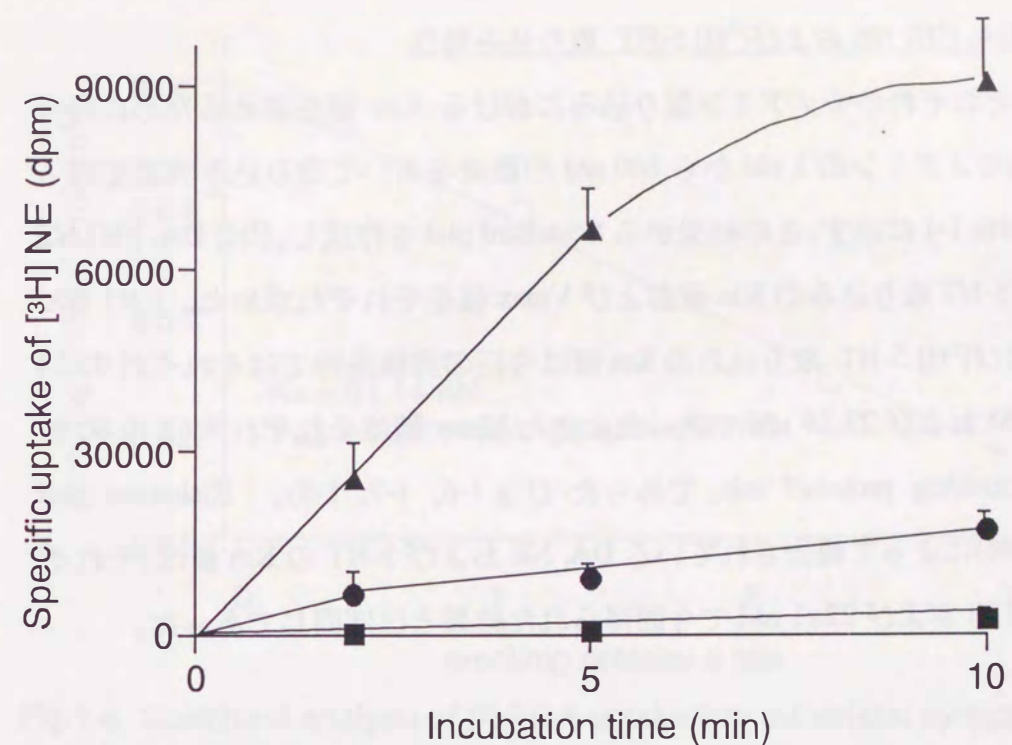


Fig.1-4. Specific uptake of [³H] NE into cortical synaptosomes (n=3)
[³H] NE concentration ■: 1 nM, ●: 10 nM, ▲: 100 nM

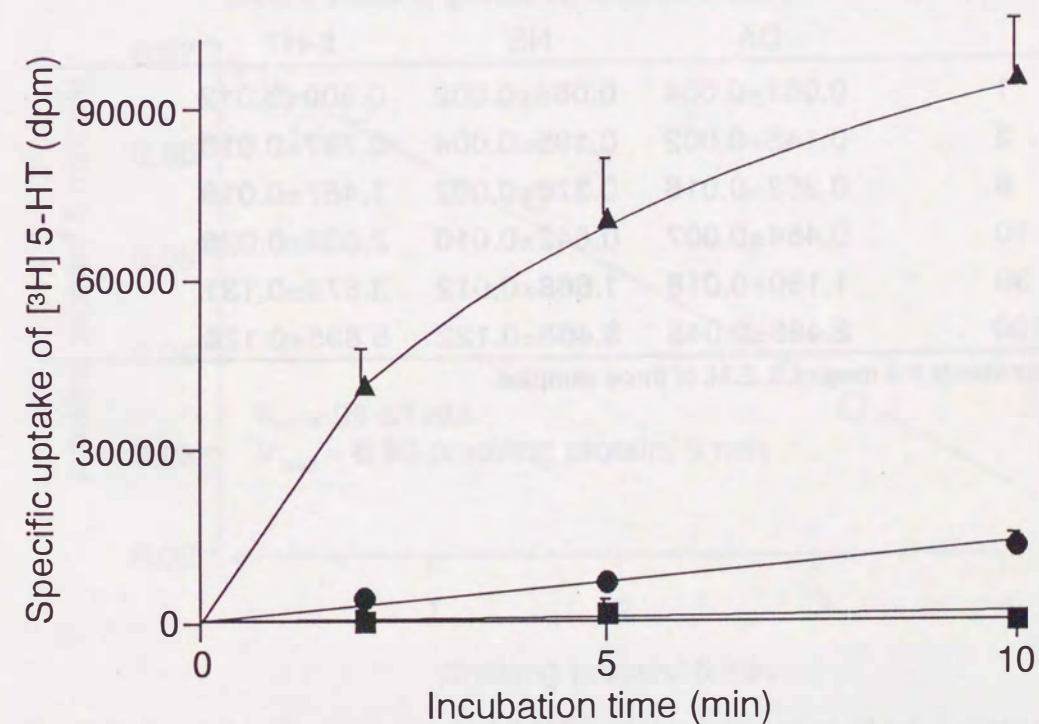


Fig.1-5. Specific uptake of [³H] 5-HT into cortical synaptosomes (n=3)
[³H] 5-HT concentration ■: 1 nM, ●: 10 nM, ▲: 100 nM

2.1.2. [³H] DA, [³H] NE および [³H] 5-HT 取り込み特性

本実験はそれぞれのモノアミン取り込みにおける K_m 値を求めるために行った。³H標識モノアミンの 1 nM から 100 nM の濃度を用いて取り込み実験を行った結果を Table 1-1 に示す。この結果から Scatchard plot を作成し、³H] DA, [³H] NE および [³H] 5-HT 取り込みの K_m 値および V_{max} 値をそれぞれ求めた。³H] DA, [³H] NE および [³H] 5-HT 取り込みの K_m 値は今回の実験条件ではそれぞれ 91.14 nM, 99.63 nM および 27.29 nM であった。また V_{max} 値はそれぞれ 4.62, 6.80 および 8.21 pmol/mg protein/5 min であった (Fig.1-6, 1-7, 1-8)。Richelson and Pfenning (1984)によって報告されている DA, NE および 5-HT の K_m 値は、それぞれ、 66 ± 4 , 91 ± 8 および 22 ± 1 nM で今回得られた結果とほぼ同じであった。

Table 1-1
Monoamine uptake into rat brain synaptosomes

Concentration (nM)	Specific uptake (pmol/mg protein/ 5 min)		
	DA	NE	5-HT
1	0.051±0.004	0.068±0.002	0.300±0.012
3	0.146±0.002	0.195±0.004	0.787±0.016
6	0.253±0.016	0.376±0.002	1.467±0.019
10	0.454±0.007	0.642±0.010	2.059±0.026
30	1.180±0.018	1.668±0.012	3.578±0.131
100	2.485±0.045	3.468±0.122	5.895±0.128

Each value represents the mean ± S.E.M. of three samples.

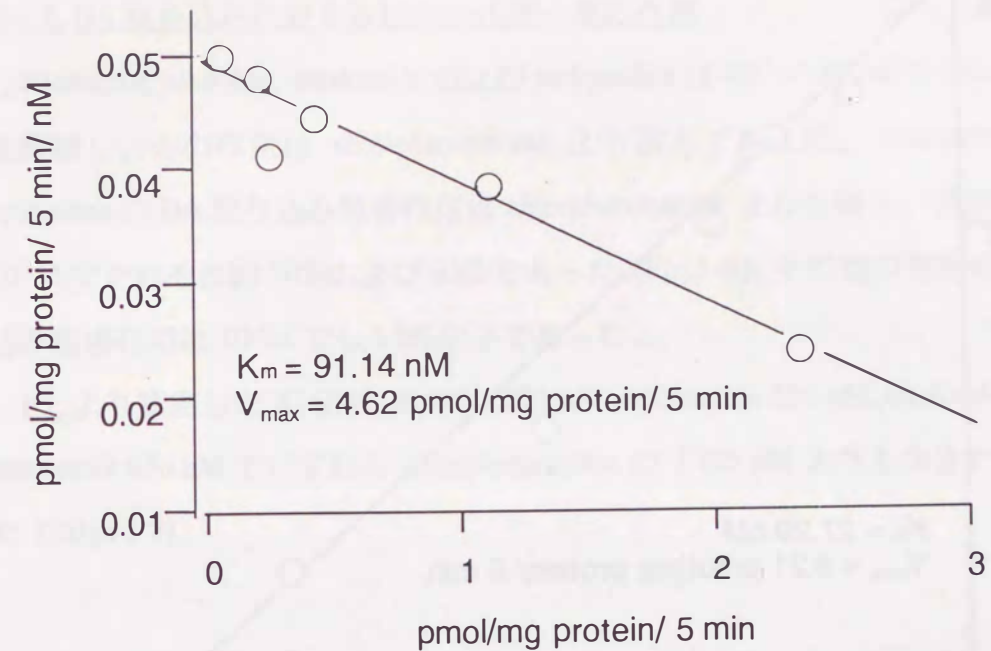


Fig.1-6. Scatchard analysis of [³H] DA uptake into rat striatal synaptosomes

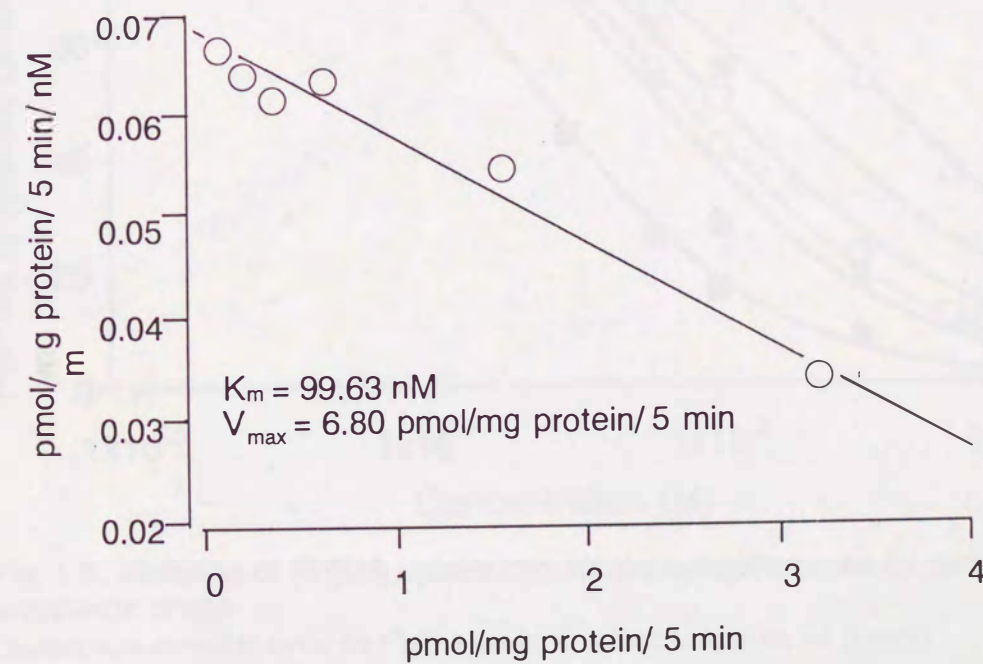


Fig.1-7. Scatchard analysis of [³H] NE uptake into rat cortical synaptosomes

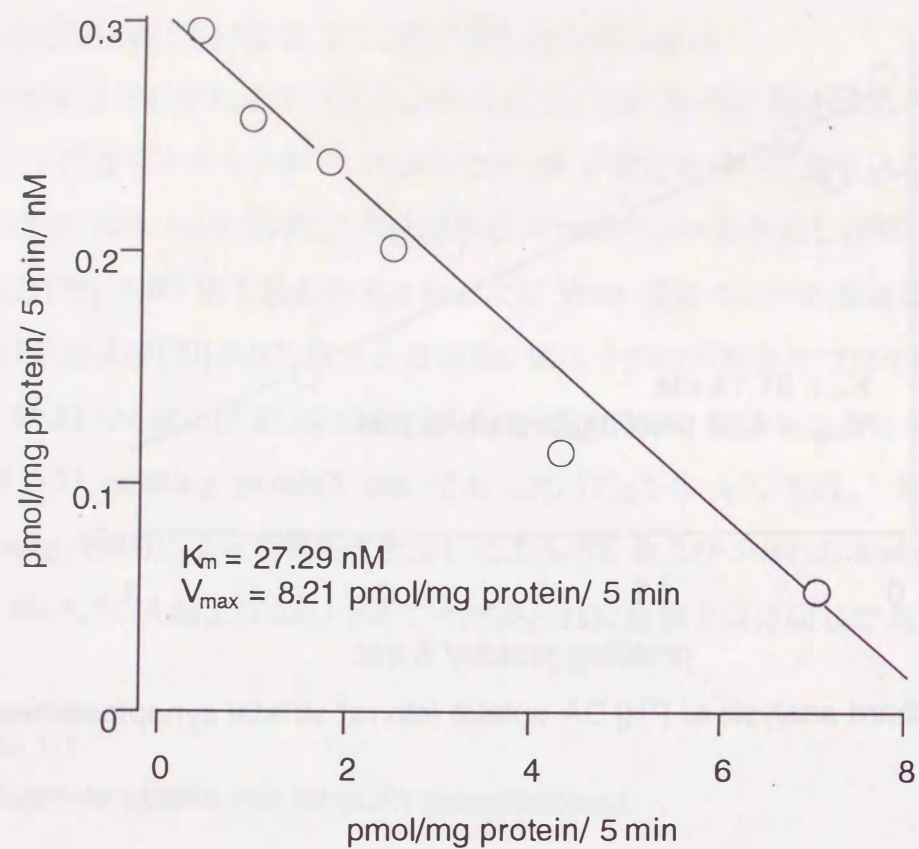


Fig.1-8. Scatchard analysis of [³H] 5-HT uptake into rat cortical synaptosomes

2.1.3. DA 取り込みに対する抗アレルギー薬の作用

astemizole, ebastine, oxatomide および terfenadine は 10^{-7} ~ 10^{-5} M で DA 取り込みを抑制し、その作用は chlorpheniramine より強力であった。azelastine および epinastine の DA 取り込み阻害作用は chlorpheniramine よりも弱く、抑制の程度は 10^{-5} M でそれぞれ約 70% および 35% であった (Fig.1-9)。その他の薬物の DA 取り込み阻害作用は 10^{-5} M でも 15% 以下であった。

IC_{50} より算出した K_i 値は、ebastine 231 nM、terfenadine 556 nM、oxatomide 676 nM、astemizole 876 nM でいずれも chlorpheniramine の 1395 nM よりも小さい値であった (Table 1-2)。

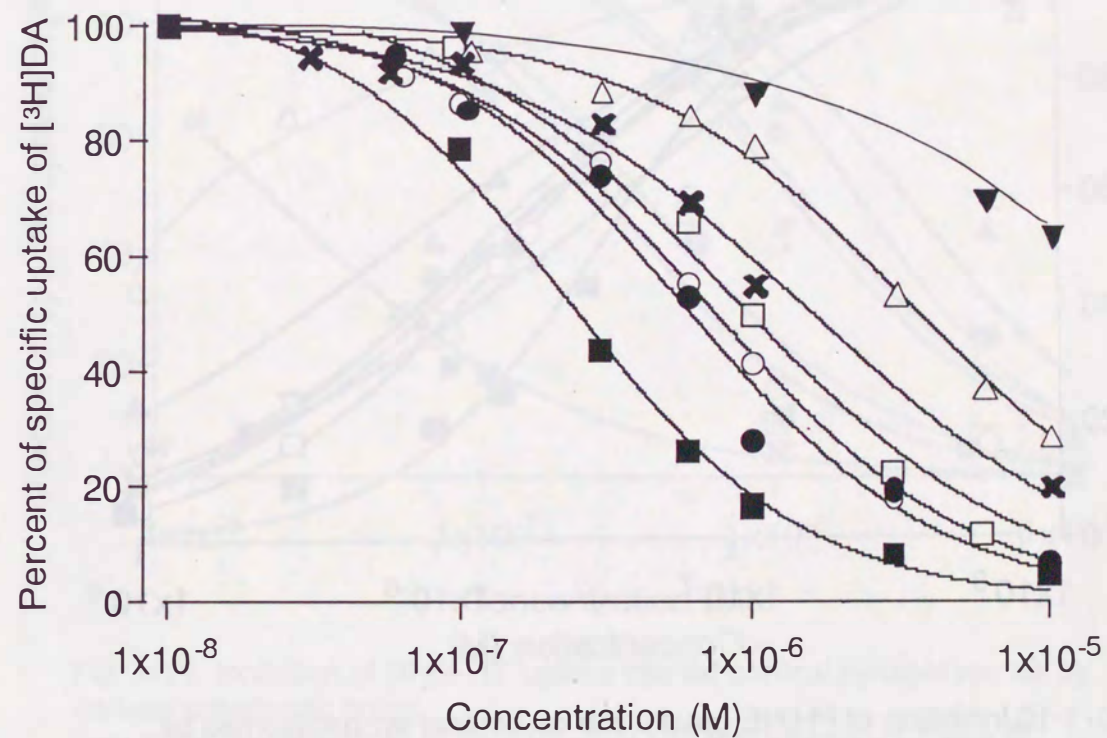


Fig. 1-9. Inhibition of [³H]DA uptake into striatal synaptosomes by various antiallergic drugs

Concentration-dependent curves for [³H]DA uptake were fitted to equation 1-1 (page 9).

□ astemizole, △ azelastine, ■ ebastine, ▼ epinastine,
○ oxatomide, ● terfenadine, × chlorpheniramine

2.1.4. NE 取り込みに対する抗アレルギー薬の作用

ebastine の NE 取り込みに対する K_i 値は 259 nM で chlorpheniramine (416 nM) の約 1.6 倍強力な NE 取り込み阻害作用を示した (Table 1-2)。astemizole, emedastine, oxatomide および terfenadine の NE 取り込みに対する K_i 値もそれぞれ、503 nM, 618 nM, 570 nM および 665 nM で chlorpheniramine と同程度か若干弱い NE 取り込み阻害作用を示した。azelastine および ketotifen の NE 取り込み阻害作用は弱く、抑制の程度は 10^{-5} M でそれぞれ約 55% および 75% であった (Fig.1-10)。その他の薬物は 10^{-5} M でも 15% 以下の抑制しか示さなかった。

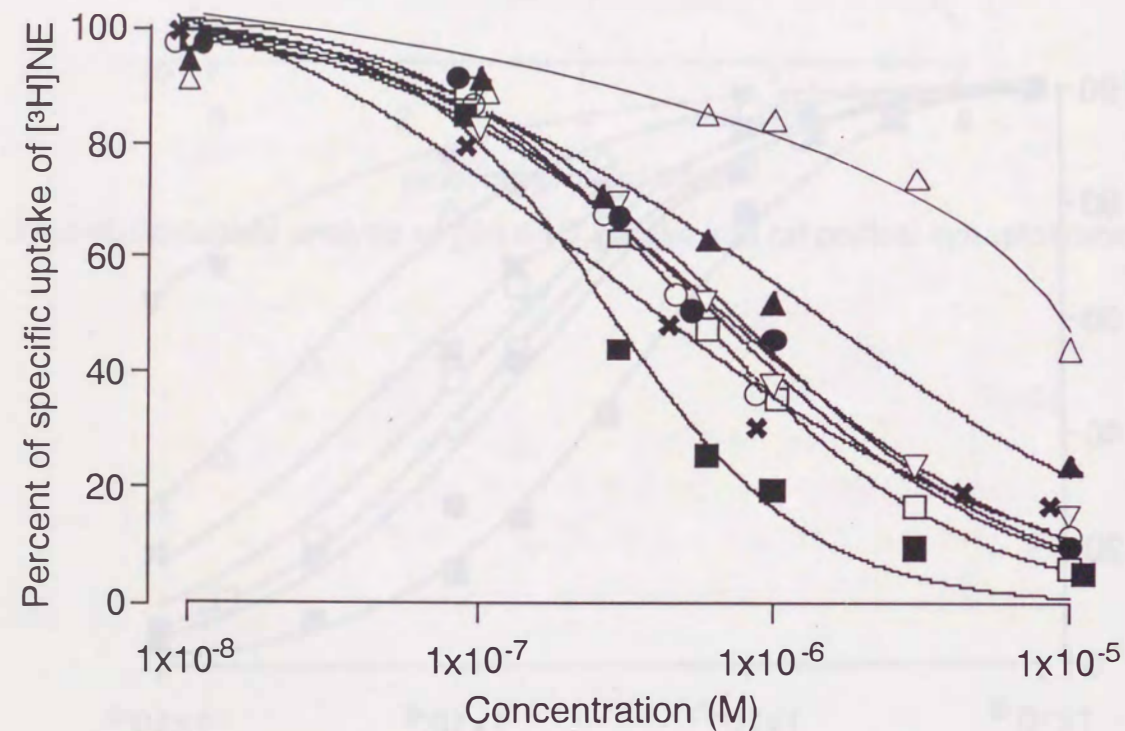


Fig. 1-10. Inhibition of $[^3\text{H}]\text{NE}$ uptake into rat cortical synaptosomes by various antiallergic drugs

Concentration-dependent curves for $[^3\text{H}]\text{NE}$ uptake were fitted to equation 1-1 (page 9).

□ astemizole, △ azelastine, ■ ebastine, ▽ emedastine,
▲ ketotifen, ○ oxatomide, ● terfenadine, × chlorpheniramine

2.1.5. 5-HT 取り込みに対する抗アレルギー薬の作用

chlorpheniramine は極めて強い 5-HT 取り込み阻害作用を示し、その K_i 値は 13 nM であった (Table 1-2)。astemizole, ebastine および oxatomide の 5-HT 取り込みに対する K_i 値はいずれも 200 nM 前後で、chlorpheniramine の 15 分の 1 程度の強さであった。azelastine, epinastine, ketotifen および terfenadine の 5-HT 取り込み阻害作用は chlorpheniramine と比較すると極めて弱かった (Fig.1-11)。また、その他の薬物は 10^{-5} M でも 10% 以下の阻害作用しか示さなかった。

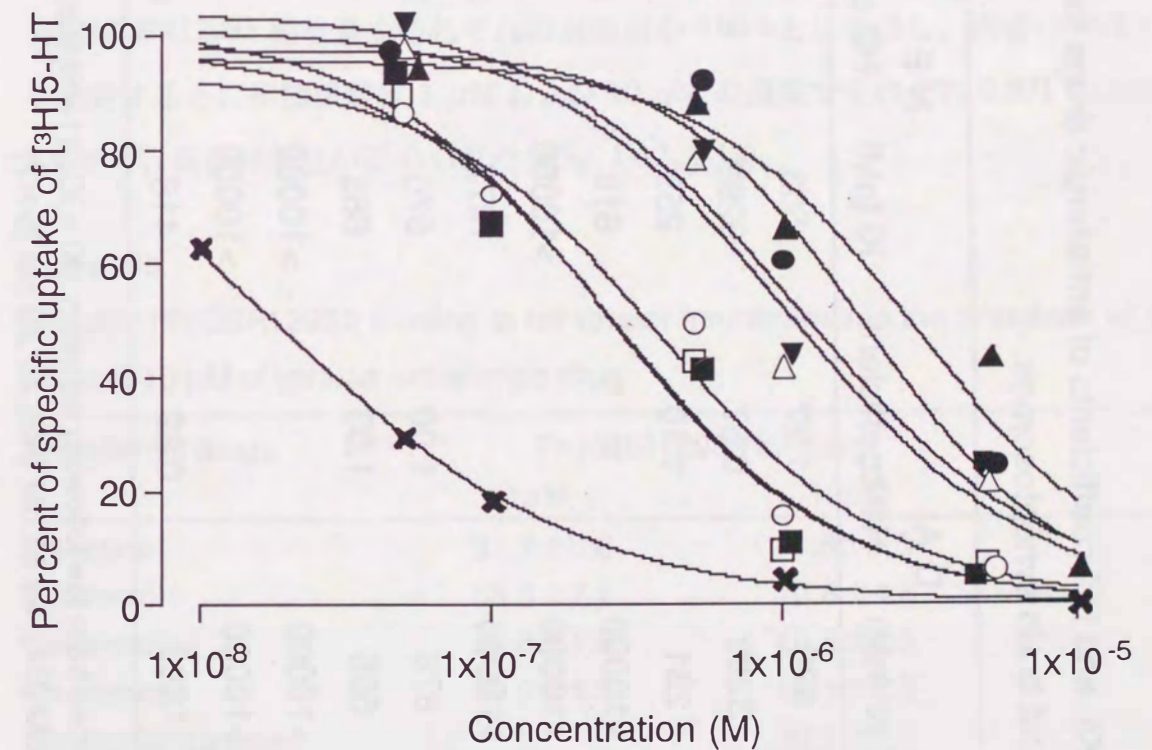


Fig. 1-11. Inhibition of $[^3\text{H}]\text{5-HT}$ uptake into rat cortical synaptosomes by various antiallergic drugs

Concentration-dependent curves for $[^3\text{H}]\text{5-HT}$ uptake were fitted to equation 1-1 (page 9).

□ astemizole, △ azelastine, ■ ebastine, ▽ epinastine,
▲ ketotifen, ○ oxatomide, ● terfenadine, × chlorpheniramine

Table 1-2
Inhibition constants (K_i) and Hill coefficients of antiallergic drugs for the blockade of [³H]DA, [³H]NE or [³H]5-HT uptake into rat brain synaptosomes

Antiallergic drugs	D A		N E		5- HT	
	K _i (nM)	Hill coefficient	K _i (nM)	Hill coefficient	K _i (nM)	Hill coefficient
Astemizole	876	1.27	503	1.03	185	0.95
Azelastine	3289	0.87	9299	0.81	791	1.14
Ebastine	231	1.10	259	0.97	190	1.26
Emedastine	>10000		618	0.76	>10000	
Epinastine	>10000		>10000		881	1.06
Ketotifen	>10000		1277	0.87	1928	1.19
Oxatomide	676	1.00	570	0.87	252	1.17
Terfenadine	556	1.03	665	1.01	1339	1.50
Pemirolast	>10000		>10000		>10000	
Tranilast	>10000		>10000		>10000	
Chlorpheniramine	1395	0.89	416	0.63	13	0.81

The K_i values were calculated from the following equation : $K_i = IC_{50} / (1 + [S]/K_m)$
[S] = 10 nM, K_m = 91.14 nM (DA), 99.63 nM (NE), 27.29 nM (5-HT)

2.2. dopamine transporter 結合実験

Table 1-3 に 1 μM および 10 μM の抗アレルギー薬存在下における [³H]GBR12935 (1 nM) のラットシナプトソーム膜への結合を対照群の特異的結合量に対する%で示した。1 nM の [³H]GBR12935 の特異的結合量は 450 fmol/mg protein であった。ebastine、astemizole、terfenadine および oxatomide は 10 μM の濃度においてそれぞれ約 98, 90, 90 および 72 % の結合阻害を示し、これは chlorpheniramine より強力な結合阻害作用であった。azelastine および epinastine は 10 μM の濃度でそれぞれ約 50% の結合阻害を示した。その他の薬物の結合阻害率は 10 μM でも 20 % 以下であった。抗アレルギー薬存在下での DA 取り込み量と [³H]GBR12935 結合量をそれぞれの対照群を 100% として表し、両者の関連性を検討すると、相関係数は 1 μM および 10 μM の濃度でそれぞれ 0.971 および 0.978 で、高い相関性が認められた (Fig. 1-12, 1-13)。

Table 1-3
Specific [³H]GBR12935 binding to rat striatal membranes in the presence of 1 μM and 10 μM of various antiallergic drug

Antiallergic drugs	[³ H]GBR12935 binding	
	1 μM	10 μM
Ebastine	31.7 ± 0.6	1.8 ± 1.3
Astemizole	58.6 ± 2.1	10.8 ± 4.5
Terfenadine	42.8 ± 1.5	10.5 ± 2.8
Oxatomide	60.9 ± 4.2	18.1 ± 2.3
<u>Chlorpheniramine</u>		<u>30.1 ± 1.0</u>
Azelastine	80.5 ± 2.1	46.7 ± 6.3
Epinastine	76.8 ± 4.9	50.8 ± 2.2
Ketotifen	89.3 ± 2.7	81.6 ± 5.7
Emedastine	85.2 ± 4.0	82.1 ± 1.4
Pemirolast	89.5 ± 3.1	99.7 ± 3.4
Tranilast	92.9 ± 3.6	93.0 ± 0.8

Effect of drugs were given as a percentage of the specific bindings of [³H]GBR12935 (1 nM) to rat striatal membranes in the absence of drugs (450 fmol/mg protein). Each value represents the mean ± S.E.M. of three separate experiments.

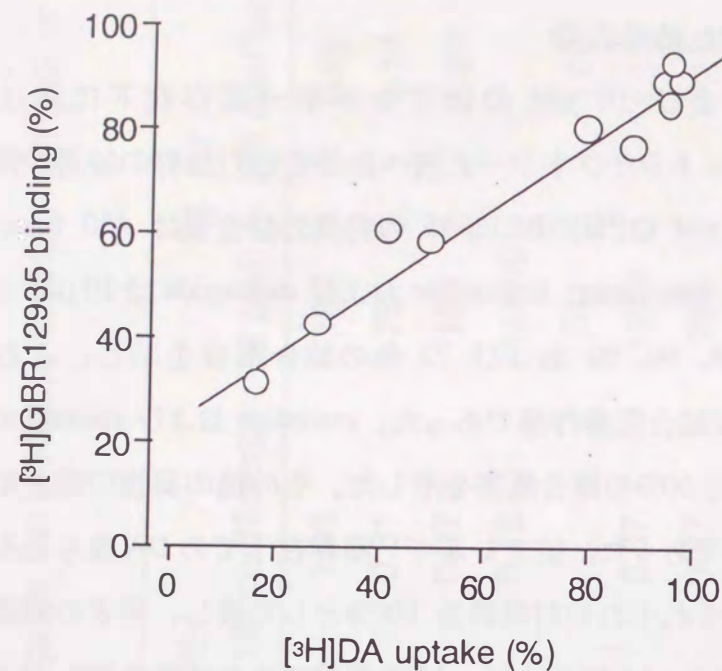


Fig. 1-12. Correlation between the specific $[^3\text{H}]$ DA uptake and $[^3\text{H}]$ GBR12935 binding in the presence of $1 \mu\text{M}$ of each antiallergic drug

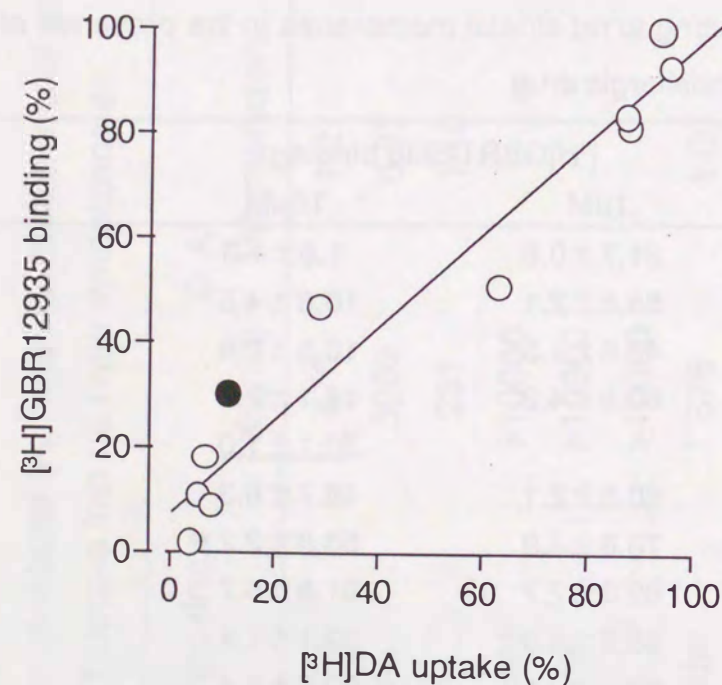


Fig. 1-13. Correlation between the specific $[^3\text{H}]$ DA uptake and $[^3\text{H}]$ GBR12935 binding in the presence of $10 \mu\text{M}$ of each antiallergic drug
●: chlorpheniramine

3. 考察

抗アレルギー薬 10 種について、各モノアミン(DA, NE および 5-HT)の取り込みに対する作用をそれぞれ調べ、chlorpheniramine と比較した。ebastine は 3 種のモノアミンすべてに対して、 200 nM 前後の K_i 値を示し、各モノアミンに同程度の取り込み阻害作用を示した。抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用を ebastine を基準にしてまとめたものが Table 1-4 である。

Table 1-4

Effects of antiallergic drugs on monoamine uptake into rat brain synaptosomes

Antiallergic drugs	DA	NE	5-HT
Ebastine	++	++	++
Astemizole	+	+	++
Oxatomide	+	+	++
Terfenadine	+	+	+
Azelastine	+	-	+
Emedastine	-	+	-
Epinastine	-	-	+
Ketotifen	-	+	+
Pemirolast	-	-	-
Tranilast	-	-	-
chlorpheniramine	+	++	+++

+++ : $K_i < 50 \text{ nM}$, ++ : $K_i < 500 \text{ nM}$, + : $K_i < 5 \mu\text{M}$, - : $K_i \geq 5 \mu\text{M}$

このようにモノアミンの取り込みに対する作用は抗アレルギー薬によってかなり異なることがわかった。ebastine は 10 種の抗アレルギー薬の中で DA および NE に対して最強の取り込み阻害作用を示し、その程度は chlorpheniramine と同程度か若干強かった。また、5-HT に対しても astemizole について 2 番目に強い効力を有していた。ebastine は初回通過効果を強く受ける薬物で、経口投与された場合血漿中に検出されるのはほとんど活性代謝物の carebastine であることが知られている (Fujii et al., 1994a,b)。本来モノアミン取り込み阻害作用を carebastine についても検討すべきであるが、今回 carebastine を入手できなかった

ため行わなかった。しかし DA 取り込みに対する carebastine の効果については第 2 章の行動実験の結果から推察できると考えている。モルモットおよびラット脳シナプトソーム膜を用いた ebastine および carebastine の α_1 , β , D_2 および 5-HT₂ 受容体に対する阻害作用を調べた報告では ebastine が 5-HT₂ 受容体に親和性を示すのみ (IC₅₀, 0.31 μ M) で他の受容体に対しては ebastine および carebastine とともに 1 μ M でも親和性を示していない (エバステル錠インタビューフォーム)。従って carebastine が ebastine と同様のモノアミン取り込み阻害作用を示すとすれば、モノアミン神経伝達の高進が認められる可能性がある。

astemizole と oxatomide はモノアミンのうち 5-HT に対する取り込み阻害作用が最も強く、ついで NE, DA の順であった。astemizole は抗アレルギー薬 10 種の中で最も強力な 5-HT 取り込み阻害作用を示したが、chlorpheniramine と比較すると、その作用は約 14 分の 1 であった。

oxatomide には DA 受容体への拮抗作用があり、その程度は chlorpromazine の約 5 分の 3 である (Leysen and Gommeren, 1986)。副作用として錐体外路系症状の発現も報告されているが (Daele et al., 1986; Imiya, 1992)、その頻度は chlorpromazine に比べればはるかに低い。oxatomide は抗ムスカリン作用を有してはいるが、これも chlorpromazine に比べるとはるかに弱く、このことを説明する理由とはならない。oxatomide の DA 取り込み阻害作用は、ebastine の約 3 分の 1 であったが、この作用は oxatomide の DA 受容体拮抗作用による DA 神経伝達阻害を軽減化する可能性が考えられる。この事に関する検討は第 2 章で行った。

terfenadine は astemizole および oxatomide とは逆にモノアミンのうち DA に対する取り込み阻害作用が最も強く、ついで NE, 5-HT の順であった。terfenadine の DA 取り込み阻害作用は ebastine の約 2 分の 1 であった。

azelastine はモノアミンのうち 5-HT に対する取り込み阻害作用が最も強く、ついで DA, NE の順であったが、その程度はどれも弱かった。ketotifen は NE および 5-HT に取り込み阻害作用を示し、emedastine および epinastine はそれぞれ NE および 5-HT のみに取り込み阻害作用を示したが、その程度は弱かった。酸性抗

アレルギー薬の pemirolast と tranilast は 10 μ M の濃度でも DA, NE および 5-HT のいずれに対しても取り込み阻害作用を示さなかった。

今回得られた抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用を Richelson and Pfenning (1984) によって報告されている各種モノアミン取り込み阻害薬の阻害の程度と比較した。これによると DA 取り込み阻害作用の Ki 値は benztropine 72 nM、(+)-amphetamine 82 nM および cocaine 270 nM と報告されており、単純に比較すれば、ebastine は benztropine および(+)-amphetamine の約 3 分の 1、cocaine とほぼ同程度の DA 取り込み阻害作用を示すことになる。NE 取り込み阻害作用の Ki 値は desipramine 0.9 nM、imipramine 13 nM および amitriptyline 24 nM と報告されており、10 種の抗アレルギー薬の中で NE 取り込み阻害作用が最も強力な ebastine でも、これら薬物の 10 分の 1 以下の効力しかなかった。5-HT 取り込み阻害作用の Ki 値は imipramine 42 nM、fluoxetine 12 nM および fluvoxamine 7 nM と報告されており、10 種の抗アレルギー薬の中で 5-HT 取り込み阻害作用が最も強力な astemizole は imipramine の約 4 分の 1 の効力であった。

抗アレルギー薬によるモノアミン取り込み阻害作用の中枢神経系に及ぼす影響を考える場合、中枢への移行性を考慮する必要があるが、Ki 値のみで考えると抗アレルギー薬の DA 取り込み阻害作用は amphetamine や cocaine と比較してもかなり強力であり、この作用が、これら薬物の中枢作用発現に寄与している可能性も考えられる。methamphetamine、amphetamine および cocaine などの薬物の中枢興奮作用、薬物依存発現には DA が関与しているといわれている。また、benztropine のような抗コリン薬に属するパーキンソン病治療薬にも DA 取り込み阻害作用があり、作用の一部を担っていると考えられている (Coyle and Snyder, 1969)。従って、DA 取り込み阻害作用を示す抗アレルギー薬は中枢興奮作用や薬物依存形成の増強、あるいは錐体外路症状の抑制を示す可能性が考えられる。

DA transporter の特異的リガンドである GBR12935 (Andersen, 1987) を用いて DA transporter 結合実験を行った。今回の実験で [³H] GBR12935 結合と [³H] DA 取り込みに対する抗アレルギー薬の阻害作用の間には強い相関関係が認められた。

この結果より今回の実験で得られた DA 取り込み阻害作用が DA 取り込み部位に特異的な作用であることが支持され、DA 受容体結合阻害などの要素はほとんど考えられない。また、一部の抗アレルギー薬には高濃度域で細胞障害作用があることが知られているが、最大濃度である 10 μ M でも DA 取り込み阻害作用と GBR12935 結合は高い相関を示すことからこの関与も低いものと考えられる。

4. 小活

抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用を *in vitro* 実験で検討した。

1) 塩基性抗アレルギー薬の多くがモノアミン取り込み阻害作用を示すことが明らかになった。また、各モノアミン取り込みに対する阻害の程度は抗アレルギー薬によってかなり異なった (Table 1-3)。

2) ebastine は 3 種のモノアミン (DA, NE および 5-HT) の取り込みに阻害作用を示し、その K_i 値はいずれも 200 nM 前後であった。

3) 抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用を、各モノアミンに対する代表的な取り込み阻害薬において報告された結果と比較すると、DA 取り込み阻害作用は amphetamine や cocaine に近いことがわかり、この作用がこれら薬物の中枢作用発現に寄与している可能性が考えられた。

4) 抗アレルギー薬は DA transporter リガンドの [3 H] GBR12935 結合も抑制し、その程度と [3 H] DA 取り込み阻害作用の程度の間には強い相関関係が認められた。

第 2 章 DA 取り込み阻害作用の行動薬理的検証

第 1 章のモノアミン取り込み実験において、astemizole、ebastine、oxatomide および terfenadine の 4 薬物が比較的強い DA 取り込み阻害作用を示すことがわかった。しかし、実際の薬物療法を考える場合には *in vitro* の結果が *in vivo* でどの程度再現されるかを明らかにする必要がある。そこで本章では、抗アレルギー薬の DA 取り込み阻害作用による DA 神経系の賦活を行動薬理的に明らかにする目的で、L-dopa および pargyline 誘発性興奮作用に対する抗ヒスタミン薬の増強作用を確認した後に、上記抗アレルギー薬の作用を検討した。さらに、ebastine および oxatomide の apomorphine による自発運動量高進に対する作用と haloperidol 誘発 catalepsy に対する作用を調べた。

1. 実験材料および方法

1.1. 使用動物

体重 25-35 g の ddY 系雄性マウス (セアック吉富, 福岡) を使用した。マウスは実験の少なくとも一週間前から、室温 22 ± 2 $^{\circ}$ C、12 時間明暗サイクル (午前 6 時から午後 6 時まで明期) で飼育し、飼育期間中、固形飼料および水は自由に与えた。

1.2. 使用薬物

pimozide (藤 沢)、d-chlorpheniramine maleate (吉 富)、diphenhydramine hydrochloride (田 辺)、mepyramine maleate (ICN, Plainview, NY, USA)、astemizole (持 田)、ebastine (大 日 本)、oxatomide (協 和 発 酵) および terfenadine (塩 野 義) はそれぞれの製薬会社から提供された原末を用いた。tripelennamine hydrochloride, homochlorcyclizine dihydrochloride, L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-dopa), pargyline hydrochloride, apomorphine hydrochloride および haloperidol は Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) から購入した。L-dopa, astemizole, ebastine, oxatomide および terfenadine はそれぞれ 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC) sodium 溶液に懸濁

した。pimozide, d-chlorpheniramine, diphenhydramine, homochlorcyclizine, mepyramine, pargyline および apomorphine はそれぞれ生理食塩水で用時溶解した。haloperidol は 0.1 N 酒石酸 を用いて 1% haloperidol 溶液を調製し、これを生理食塩水で希釈して用いた。salt-form の薬物の用量はすべてそのままの形で表示した。

1.3. L-dopa および pargyline 誘発興奮行動に対する作用

1.3.1. 薬物投与

マウスの腹腔内に pargyline 80 mg/kg を投与し、15分後に L-dopa 100 または 150 mg/kg を皮下投与した。L-dopa 投与直後に被検薬物を腹腔内に投与し、マウスを個別に金網製のケージ(20 x 15 x 15 cm)に移して行動を観察した。被検薬物としては、抗ヒスタミン薬の d-chlorpheniramine, diphenhydramine, homochlorcyclizine, mepyramine および、第 1 章の DA 取り込み実験において chlorpheniramine よりも強い作用を示した 4 種の抗アレルギー薬 (astemizole, ebastine, oxatomide および terfenadine)を用い、投与量を臨床量にあわせて増減した。

1.3.2. マウスの興奮行動の評価法

被検薬物の投与、15, 30, 60, 90 および 120 分後に 5 分間の観察を行い、次の基準にしたがってマウスの興奮行動をスコア化した。

- 0: ほぼ正常
- 1: 立毛または挙尾反応
- 2: 中程度の運動亢進
- 3: 観察期間 (5 分間)を通じて、著明な運動亢進
- 4: 常同行動 (嗅ぎ回り行動、噛みつき行動)

1.4. apomorphine による自発運動量高進に対する影響

1.4.1. 薬物投与

ebastine は 10 mg/kg、oxatomide は 3 および 30 mg/kg を腹腔内投与した。対照群には 0.5 % CMC を腹腔内投与した。

1.4.2. 運動量の測定

被検薬物腹腔内投与直後、マウスを個別に測定用ケージ (20 x 12 x 13.5 cm, プラスチック製)に移し、空気穴をあけた透明なプラスチック板で蓋をした。被検薬物投与 30 分後に apomorphine 0.3 mg/kg をマウスの頸背部皮下に投与し、ケージ蓋の上に設置した実験動物用自発運動量センサー (Activity Sensor Model NS-AS01, Neuroscience)を用いて、apomorphine 投与後 0~60 分の運動量を測定した。

1.5. catalepsy の測定

1.5.1. 薬物投与

ebastine の単回投与群は 10 および 20 mg/kg を腹腔内投与した。oxatomide の単回投与群には 3, 10, 30 および 100 mg/kg を腹腔内投与し、連続投与群には 3, 10 および 30 mg/kg を 1 日 1 回 8 日間、腹腔内投与した。対照群には 0.5% CMC を腹腔内投与した。

1.5.2. 実験方法

腹腔内に被検薬物を投与した直後に haloperidol をマウスの頸背部皮下に投与し、haloperidol 投与 60, 120 および 240 分後に catalepsy を測定した。

約 4 cm の高さに水平に渡した直径 2 mm の鉄棒 (棒には細い糸を巻きつけてある) にマウスの前肢を強制的にかけさせ、背伸びをした不自然な姿勢を 30 秒以上保持した場合を catalepsy 陽性と判定した。また ebastine 単回投与群および oxatomide 連続投与群では、それぞれ 60 秒および 120 秒を上限として姿勢保持時間も計測した。

1.6. 統計処理

3 群以上を比較する場合には Kruskal-Wallis rank test を用い、群間の比較には Mann-Whitney's U test を用いた。catalepsy 陽性率の有意差検定には Fisher's exact probability test を用いた。統計処理のソフトウェアには Statview (Abacus Concepts, Berkeley, CA)を用いた。

2. 実験成績

2.1. L-dopa および pargyline 誘発興奮行動に対する作用

2.1.1. 予備的実験

本モデルに中枢 DA 神経系が関与することを確認するために、大量の L-dopa 300 mg/kg および pargyline 80 mg/kg を投与したマウスの異常興奮行動に対する pimozide (DA 拮抗薬)の影響を観察した。L-dopa 投与後 90 分から 120 分でほとんどすべてのマウスが常同行動(スコア=4)を示した。pimozide は 0.1mg/kg の少量で L-dopa および pargyline 誘発興奮行動を有意に抑制し、0.3 mg/kg 投与群では、さらに著明な減少を示した (Fig. 2-1)。

L-dopa (150 mg/kg) および pargyline を前投与したモデルの興奮行動は tripeleennamine 10 mg/kg の投与によって、著明に増強された。tripeleennamine の増強作用は pimozide 0.3 mg/kg の投与により、ほぼ完全に阻害された (Fig. 2-2)。

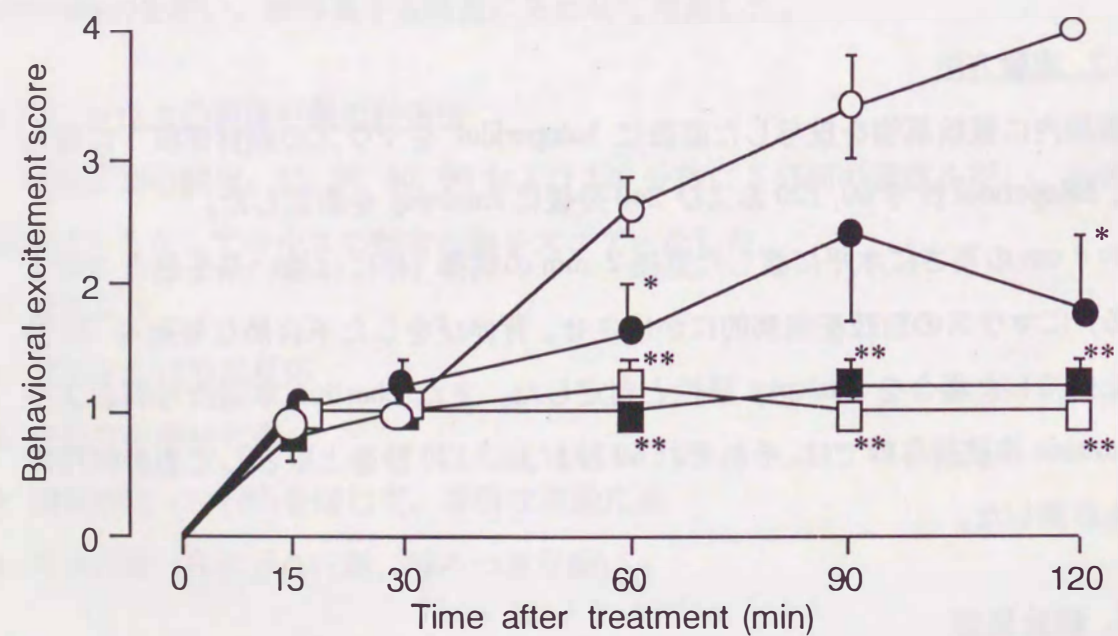


Fig.2-1. Effect of pimozide on behavioral excitement induced by pargyline and L-dopa in mice

Mice were injected with pargyline hydrochloride (80 mg/kg, i.p.) 15 min before treatment with saline (○, i.p.) or pimozide (0.1 mg/kg, ●; 0.3 mg/kg, ■; 1.0 mg/kg, □, i.p.) and L-dopa (300 mg/kg, s.c.). Each value represents the mean score \pm S.E.M. of 7 animals. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared with the saline-treated group.

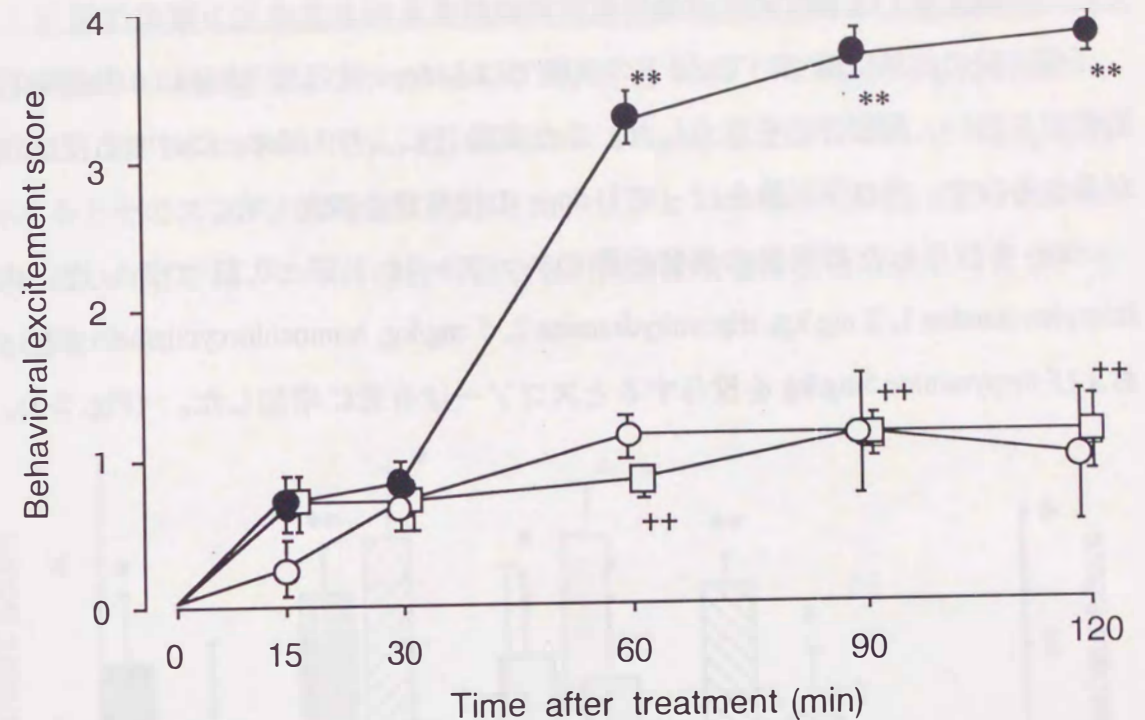


Fig.2-2. Effect of tripeleennamine on behavioral excitement induced by pargyline and L-dopa in mice

Mice were injected with pargyline hydrochloride (80 mg/kg, i.p.) 15 min before treatment with saline (○, i.p.), tripeleennamine (10 mg/kg, ●, i.p.) or tripeleennamine plus pimozide (0.3 mg/kg, □, i.p.) and L-dopa (150 mg/kg, s.c.). Each value represents the mean score \pm S.E.M. of 7 animals. ** $p < 0.01$ as compared with the saline-treated group. ++ $p < 0.01$ as compared with the tripeleennamine-treated group.

2.1.2. L-dopa および pargyline 誘発興奮行動に対する抗ヒスタミン薬の作用

予備実験の結果に基づいて、以下の実験では L-dopa 投与後 90 分に 5 分間の行動観察を行い、興奮行動を採点した。また実験日より L-dopa に対する反応性が異なるので、当日予試験を行って L-dopa の投与量を調節した。

saline を投与した対照群の興奮行動のスコアは 1.17 ± 0.17 であった。d-chlorpheniramine 1, 2 mg/kg, diphenhydramine 2, 5 mg/kg, homochlorcyclizine 5 mg/kg および mepyramine 5mg/kg を投与するとスコアは有意に増加した。(Fig. 2-3)。

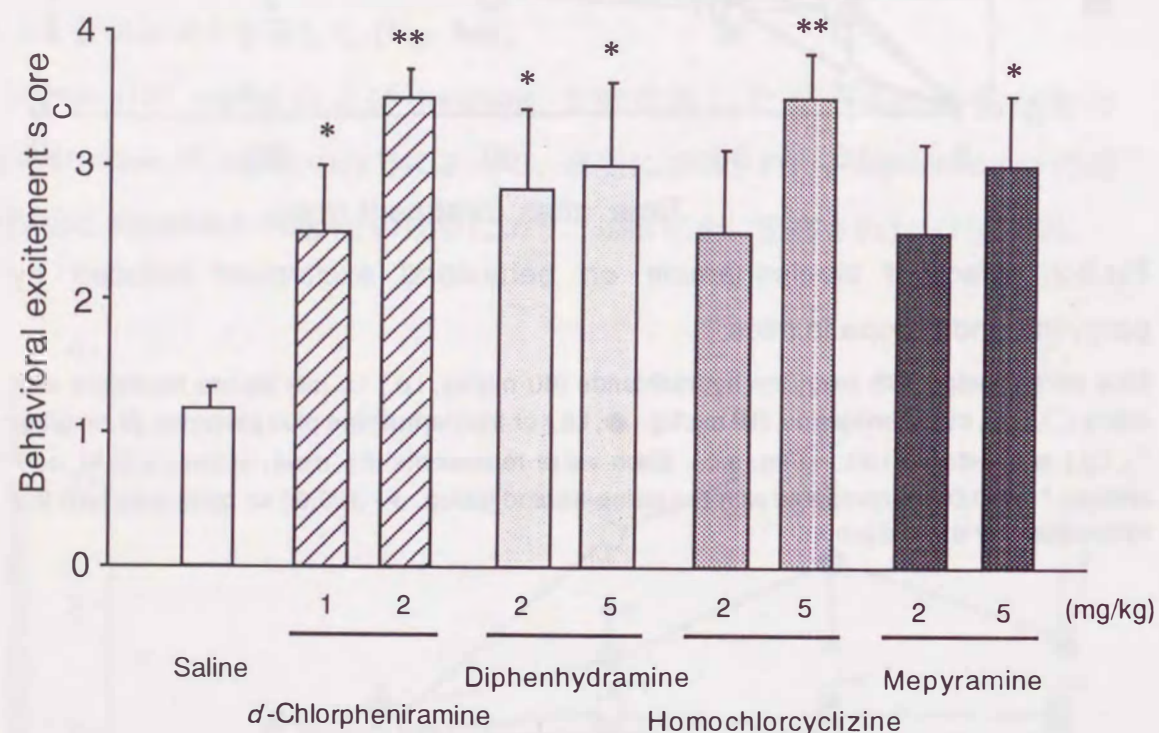


Fig.2-3. Effects of histamine H₁-receptor antagonists on behavioral excitement induced by pargyline and L-dopa in mice

Mice were injected with pargyline hydrochloride (80 mg/kg, i.p.) 15 min before treatment with H₁ antagonists drugs (i.p.) and L-dopa (150 mg/kg, s.c.) and observed 90 min later. Each value represents the mean score \pm S.E.M. of 6 animals. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared with the saline-treated group.

2.1.3. L-dopa および pargyline 誘発興奮行動に対する抗アレルギー薬の作用

L-dopa 100 mg/kg および pargyline 80 mg/kg と 0.5% CMC を投与した対照群のスコアは 1.42 ± 0.40 であった。astemizole 5 mg/kg または ebastine 10 mg/kg を投与するとそのスコアは有意に増加した。しかし oxatomide あるいは terfenadine を併用した群では、いずれの投与量でも対照群と有意な変化は認められなかった (Fig. 2-4)。

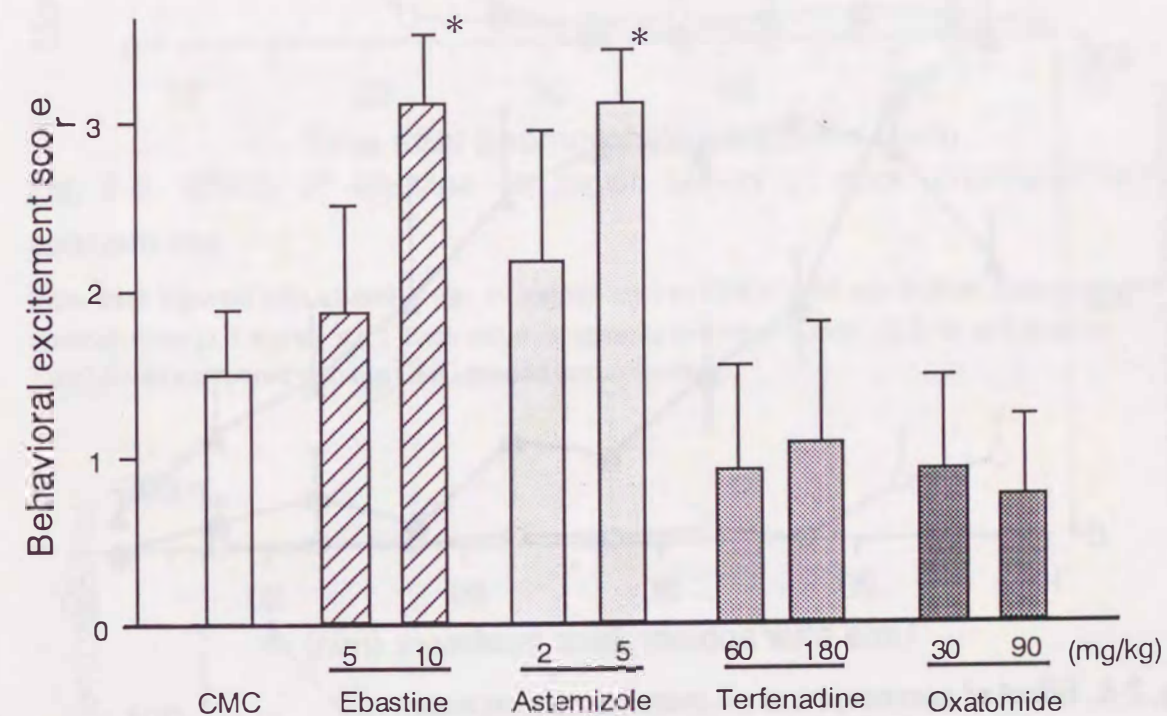


Fig.2-4. Effects of antiallergic drugs on behavioral excitement induced by pargyline and L-dopa in mice

Mice were injected with pargyline hydrochloride (80 mg/kg, i.p.) 15 min before treatment with antiallergic drugs (i.p.) and L-dopa (100 mg/kg, s.c.) and observed 90 min later. Each value represents the mean score \pm S.E.M. of 8-10 animals. * $p < 0.05$ as compared with the CMC-treated group.

2.2. apomorphine 誘発性自発運動量高進に対する影響

抗アレルギー薬を用いた実験を行う前に apomorphine 単独投与によるマウスの自発運動量の変化を測定し、以後の実験に使用する投与量を検討した。apomorphine 0.3 mg/kg の投与では投与後 40 分まで自発運動量は高進した。1 mg/kg で、さらに著明な自発運動量の高進が認められ、持続時間も延長した (Fig. 2-5)。

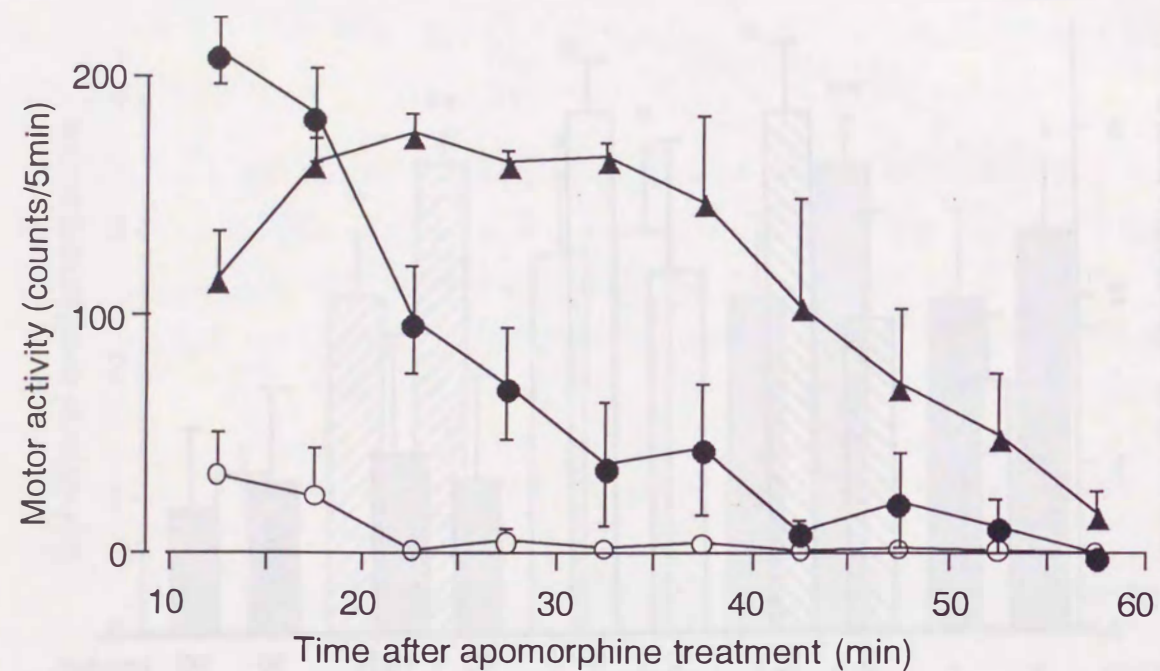


Fig. 2-5. Effect of apomorphine on motor activity in mice

Mice were treated with apomorphine (●: 0.3 and ▲: 1 mg/kg, s.c.) or saline (○), and the motor activity was measured 10-60 min after apomorphine treatment. Each result represents the mean \pm S.E.M. of 3 animals.

ebastine 10mg/kg 投与群では、apomorphine 投与後 10~15 分、15~20 分の運動量が対照群に比較して有意に増大した (Fig. 2-6)。

oxatomide 3 mg/kg および 30 mg/kg 投与群では 10~60 分間の対照群との間に有意な差が認められなかった (Fig. 2-7)。

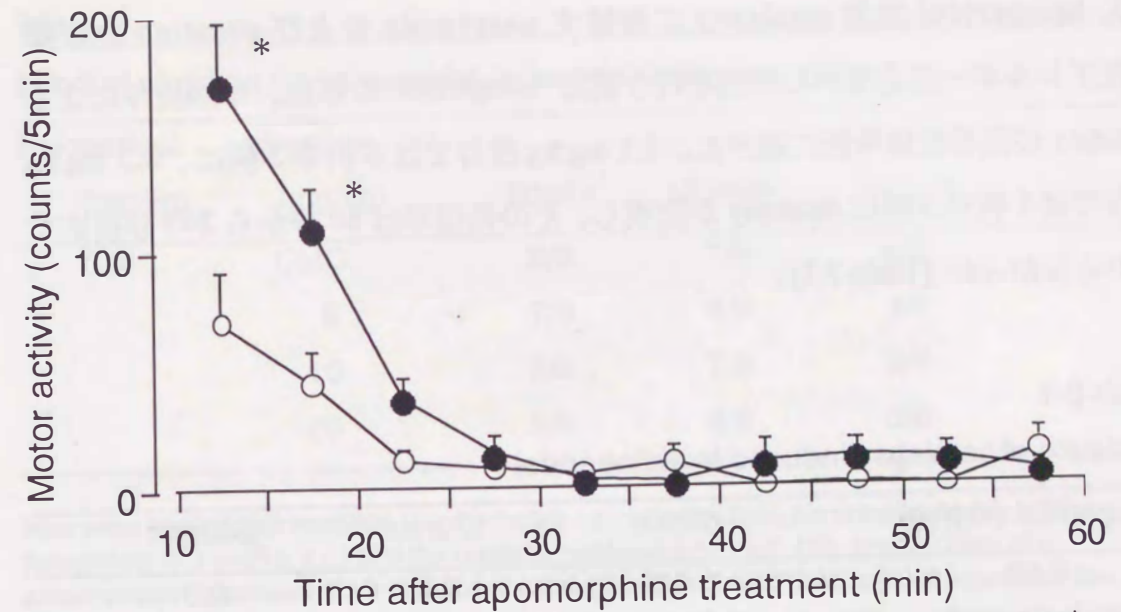


Fig. 2-6. Effects of ebastine on motor activity in mice pretreated with apomorphine

Mice were injected with ebastine (●: 10 mg/kg, i.p.) or CMC (○) 30 min before treatment with apomorphine (0.3 mg/kg, s.c.). Each value represents the mean score \pm S.E.M. of 5 animals. * $p < 0.05$ as compared with the CMC-treated group (control).

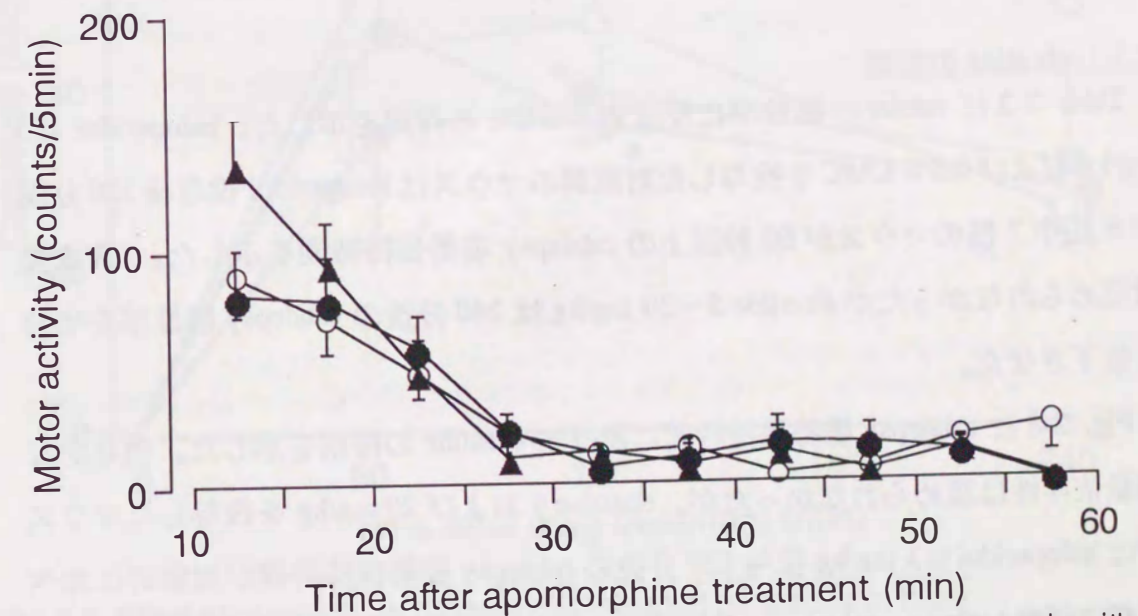


Fig. 2-7. Effects of oxatomide on motor activity in mice pretreated with apomorphine

Mice were injected with oxatomide (●: 3 and ▲: 30 mg/kg, i.p.) or CMC (○) 30 min before treatment with apomorphine (0.3 mg/kg, s.c.). Each value represents the mean score \pm S.E.M. of 9 animals.

2.3. haloperidol 誘発 catalepsy に及ぼす oxatomide および ebastine の影響

抗アレルギー薬を用いた実験を行う前に haloperidol の単独、単回投与による catalepsy の発現を経時的に調べた。0.1 mg/kg 投与では 5 例中 2 例に、0.3 mg/kg 投与では 5 例中 3 例に catalepsy が発現し、その発現率は 60 分から 240 分後まで変わらなかった (Table 2-1)。

Table 2-1

Incidence of catalepsy induced by haloperidol

haloperidol (mg/kg)	60min	120min	240min
0.03	0/5	0/5	0/5
0.1	2/5	2/5	2/5
0.3	3/5	3/5	3/5

Mice were treated with haloperidol (0.03, 0.1, 0.3 mg/kg, s.c.) and the catalepsy was examined 60, 120, and 240 min after administration. Values represent the incidence of catalepsy among mice used.

2.3.1. ebastine の影響

Table 2-2 に catalepsy 陽性率に及ぼす ebastine の作用を示した。haloperidol 0.3 mg/kg および 0.5% CMC を投与した対照群のマウスは haloperidol 投与後 120 分間で 8 匹中 7 匹のマウスが 60 秒以上の catalepsy 姿勢保持時間を示した。有意差は認められなかったが ebastine 5~20 mg/kg は 240 分後の catalepsy 陽性率を半分に低下させた。

Fig. 2-8 に catalepsy 姿勢保持時間に及ぼす ebastine の作用を示した。明らかな用量依存性は認められなかったが、ebastine 5 および 20 mg/kg を投与したマウスでは haloperidol 0.3 mg/kg 投与 120 分後の catalepsy 姿勢保持時間が対照群に比べ有意に短縮した。

Table 2-2

Effect of ebastine on haloperidol-induced catalepsy in mice

haloperidol (mg/kg)	ebastine (mg/kg)	60min	120min	240min
0.3	CMC	6/8	7/8	6/8
	5	7/8	4/8	3/8
	10	5/8	7/8	3/8
	20	3/8	4/8	3/8

Mice were treated with ebastine (10, 20 mg/kg, i.p.) or 0.5% CMC Na simultaneously with haloperidol (0.3 mg/kg, s.c.) and the catalepsy was examined 60, 120, and 240 min after administration. Values represent the incidence of catalepsy among mice used. Values represent the incidence of catalepsy among mice used.

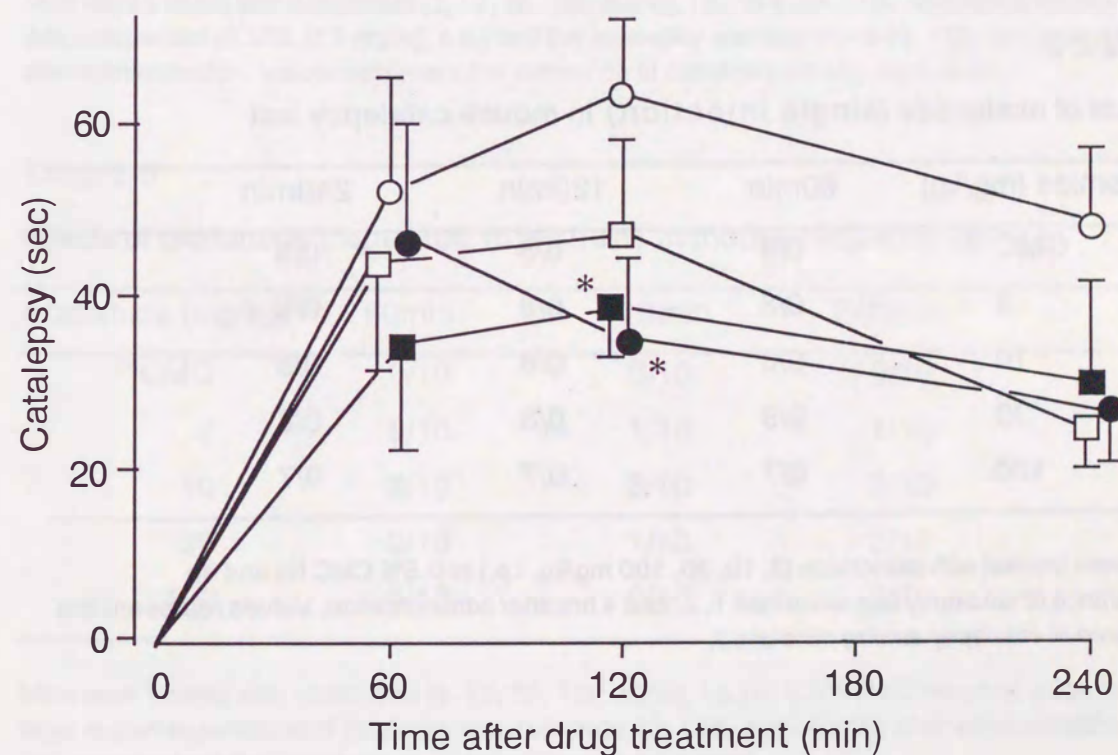


Fig.2-8. Effect of ebastine on haloperidol-induced catalepsy in mice

Mice were treated with ebastine (5: ●, 10: □ and 20: ■ mg/kg, i.p.) or 0.5% CMC: ○, simultaneously with haloperidol (0.3 mg/kg, s.c.), and the catalepsy was examined 60, 120, and 240 min after administration. Each result represents the mean ± S.E.M. of 8 animals.

* p<0.05 as compared with the CMC-treated group (Mann-Whitney's U-test)

2.3.2. oxatomide の単回および連続投与の影響

oxatomide 単独で単回投与した場合、3~100mg/kg のいずれの投与量においても、投与後 240 分まで catalepsy は誘発されなかった (Table 2-3)。

Table 2-4 は haloperidol 0.075 および 0.1 mg/kg による catalepsy に対する oxatomide の作用を示したものである。oxatomide 3~100mg/kg のいずれの投与量でも、haloperidol 誘発 catalepsy に対する有意な変化は認められなかった。

oxatomide を 7 日間連続投与した場合、3, 10, 30 mg/kg 投与群でそれぞれ 10 例中 1 例、3 例、2 例に catalepsy が誘発されたが、いずれの投与量においても有意差は認められなかった。また、100 mg/kg では catalepsy の発現は認められなかった (Table 2-5)。

Table 2-3

Effects of oxatomide (single injection) in mouse catalepsy test

oxatomide (mg/kg)	60min	120min	240min
CMC	0/8	0/8	0/8
3	0/8	0/8	0/8
10	0/8	0/8	0/8
30	0/8	0/8	0/8
100	0/7	0/7	0/7

Mice were treated with oxatomide (3, 10, 30, 100 mg/kg, i.p.) or 0.5% CMC Na and an appearance of catalepsy was examined 1, 2, and 4 hrs after administration. Values represent the incidence of catalepsy among mice used.

Table 2-4

Effect of oxatomide (single injection) on haloperidol-induced catalepsy in mice

haloperidol (mg/kg)	oxatomide (mg/kg)	60min	120min	240min
0.075	CMC	1/10	3/10	4/10
	100	1/10	3/10	2/10
0.1	CMC	3/10	3/10	7/10
	3	6/10	5/10	5/10
	10	6/10	5/10	3/10
	30	6/10	6/10	6/10

Mice were treated with oxatomide (3, 10, 30, 100 mg/kg, i.p.) or 0.5% CMC Na simultaneously with haloperidol (0.075, 0.1 mg/kg, s.c.) and the catalepsy was examined 60, 120, and 240 min after administration. Values represent the incidence of catalepsy among mice used.

Table 2-5

Effects of oxatomide (repeated injection) in mouse catalepsy test

oxatomide (mg/kg)	60min	120min	240min
CMC	0/10	0/10	0/10
3	0/10	1/10	1/10
10	3/10	3/10	2/10
30	0/10	1/10	2/10
100	0/10	0/10	0/10

Mice were treated with oxatomide (3, 10, 30, 100 mg/kg, i.p.) or 0.5% CMC Na once a day for 7 days and an appearance of catalepsy was examined 60, 120, and 240 min after administration. Values represent the incidence of catalepsy among mice used.

oxatomide を 7 日間連投したマウスに haloperidol 0.075 mg/kg を投与すると、30 mg/kg 投与群において catalepsy 陽性率が増加し、投与 240 分後では対照群と比較して有意な増加が認められた (Table 2-6)。また、30 mg/kg 投与群では姿勢保持時間も延長し、投与 240 分後では有意差が認められた (Fig. 2-9)。

Table 2-6
Effect of oxatomide (repeated injection) on haloperidol-induced catalepsy in mice

haloperidol (mg/kg)	oxatomide (mg/kg)	60min	120min	240min
0.075	CMC	1/10	2/10	0/10
	3	0/10	1/10	0/10
	10	3/10	2/10	3/10
	30	3/10	6/10	4/10 *

Mice were treated with oxatomide (3, 10, 30 mg/kg, i.p.) or 0.5% CMC Na simultaneously with haloperidol (0.075 mg/kg, s.c.) once a day for 8 days and an appearance of catalepsy was examined 60, 120, and 240 min after administration. * $p < 0.05$ as compared with the CMC-treated group (Fisher's exact probability test). Values represent the incidence of catalepsy among mice used.

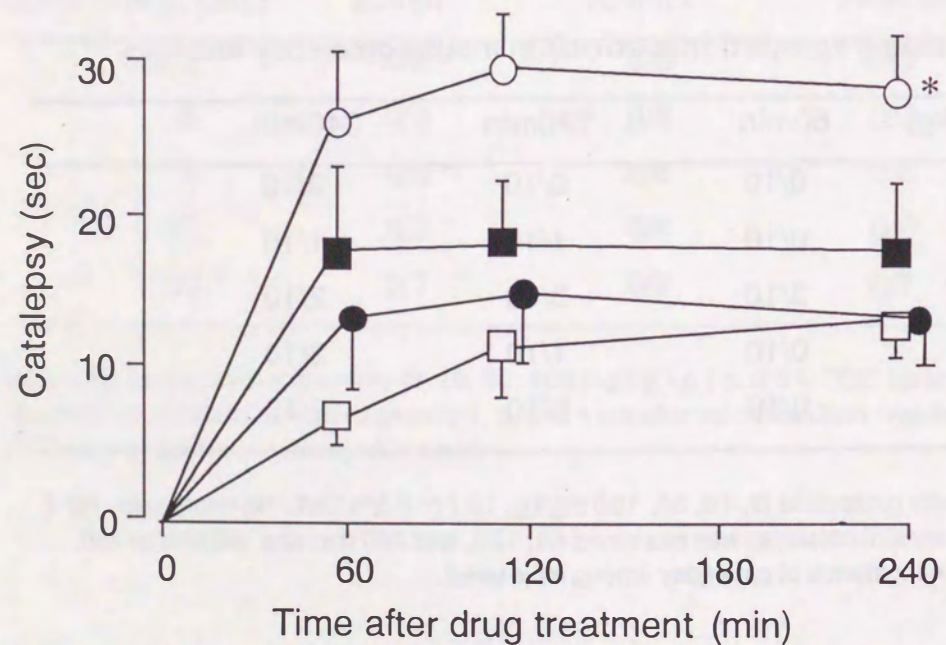


Fig.2-9. Effect of oxatomide (repeated injection) on haloperidol-induced catalepsy

Mice were treated with oxatomide (3:□, 10:■ and 30:○ mg/kg, i.p.) or 0.5% CMC: ●, simultaneously with haloperidol (0.075 mg/kg, s.c.) once a day for 8 days and the duration of catalepsy was examined 60, 120, and 240 min after administration. Each result represents the mean \pm S.E.M. of 10 animals. * $p < 0.05$ as compared with the CMC-treated group (Mann-Whitney's U-test).

3. 考察

in vitro 実験で認められた抗アレルギー薬の DA 取り込み阻害作用に着目し、in vivo 実験でもそのような効果が認められるかを明らかにするために、これらの薬物が DA 関連行動にどのような影響を及ぼすかを調べた。DA の前駆体である L-dopa とモノアミンオキシダーゼの阻害薬 pargyline をマウスに併用投与し、薬物による DA 取り込み阻害に伴う行動変化を検出しやすいモデルを作製した。このモデルの異常興奮行動は特異的 DA 受容体拮抗薬の pimozide (Janssen et al., 1968)により用量依存的に抑制された。また、DA 取り込み阻害作用の強い抗ヒスタミン薬である tripeleminamine (Oishi et al., 1994)によって著明に増強され、その効果も pimozide により完全に抑制された。さらに本モデルの興奮行動は、DA 取り込み阻害作用が示されている他の 4 つの抗ヒスタミン薬によっても有意に増強された。以上の結果は、本モデルにおける DA 神経系の関与を強く示唆するもので、DA 取り込み阻害作用を in vivo で調べる有用な手段となることを示している。

このモデルの異常興奮行動は ebastine および astemizole の投与でそれぞれ有意に増強されたが、oxatomide および terfenadine では増強されなかった。ebastine およびその活性代謝物の carebastine は D_2 受容体には影響しない(エバステル錠インタビューフォーム)。また astemizole も D_2 受容体に影響しないことが報告されている (Laduron et al., 1982)。従って、ebastine および astemizole による興奮行動の増強は DA 受容体への直接刺激作用によるものではなく、DA 取り込み阻害作用によりシナプス間隙の DA 濃度が上昇するためであると考えられる。 [^{14}C] terfenadine をラットに投与して得られたオートラジオグラムにおいて脳には放射活性が認められないことが報告されている (Leeson et al., 1982)。従って、terfenadine の投与で興奮行動が増強されなかったのは terfenadine の脳への移行性が非常に低いためだと考えられる。抗アレルギー薬 (astemizole, ebastine, oxatomide および terfenadine)の脳内移行性について Table 2-7 にまとめた(ヒスマナール錠インタビューフォーム; 柴田ら, 1984; Fujii et al., 1994a)。一方、oxatomide は脳へ移行するため terfenadine と比較して副作用としての眠気の頻度

も高い。oxatomide の D_2 受容体阻害作用は chlorpromazine の約 3/5 の効力を有することが報告されており (Leysen and Gommeren, 1986)、この作用が DA 取り込み阻害作用と拮抗するため、本モデルの異常興奮行動を増強しなかったものと推測される。

次に、DA 作動薬である apomorphine をマウスに前投与し、薬物による DA 神経活性化に伴う行動変化を検出しやすいモデルを作製して検討した。その結果、ebastine の併用により、マウスの運動量は apomorphine 単独時よりも増加したが、oxatomide の併用では運動量は増加しないという前モデルと同様の結果を得た。

比較的特異的な DA 受容体拮抗薬である haloperidol は、錐体外路症状のモデルを作製するのに繁用される。そこで次に、ebastine および oxatomide の haloperidol 誘発 catalepsy に対する作用を検討した。catalepsy 陽性率で検討した場合、有意な ebastine の効果は認められなかったが、catalepsy 保持時間で検討すると、ebastine 5 または 20 mg/kg では有意に catalepsy が抑制された。本実験結果のみでは明確な根拠とは言えないかもしれないが、L-dopa-pargyline 誘発異常興奮行動の増強および apomorphine 併用による運動量高進の結果とあわせて考えると、ebastine の DA 取り込み阻害作用により、シナプス間隙の DA 量が増加したための結果であると推測される。oxatomide は D_2 受容体阻害作用を有しているにも関わらず、単回投与では 100 mg/kg の大量投与でも catalepsy を発現しなかった。また haloperidol 誘発 catalepsy の増強作用も認められなかった。このことは oxatomide の DA 取り込み阻害作用が強く関与していることを示唆している。すなわち、oxatomide は DA 神経に対して、 D_2 受容体阻害作用と DA 取り込み阻害作用の相反する作用を有する薬物であり、catalepsy に影響しなかったのは DA 神経に対して、相反する 2 つの作用が拮抗しているためであると考えられる。catalepsy は抗ムスカリン作用により抑制されるが oxatomide の抗ムスカリン作用は弱いと報告されている (Laduron et al., 1982, 大森ら, 1983)。また、oxatomide には抗 5-HT 作用もあるが、5-HT の錐体外路系への作用は明らかでなく、DA に比べてその関与は少ないと考えられる。一方、oxatomide の連続投与時にはわずかではあるが catalepsy が発

現し、また、haloperidol 誘発 catalepsy を有意に増強した。chlorpromazine の D_2 受容体阻害作用の K_i 値 (Billard et al., 1984) と、oxatomide の D_2 受容体阻害作用の IC_{50} 値 (Leysen and Gommeren, 1986) から予測される oxatomide の K_i 値 (13.6 nM) を、第 1 章で報告した DA 取り込み阻害作用の K_i 値 (676 nM) を比較すると、 D_2 受容体阻害作用の方が約 50 倍強力であることが推測される。このことから oxatomide の DA 取り込み阻害作用は D_2 受容体阻害作用による錐体外路症状を軽減するが、完全に拮抗することはできず、連続投与時には錐体外路症状が発現することがあるものと考えられた。その機序は明らかではないが、シナプス間隙 DA 量の長期増加による DA receptor の down-regulation やオートレセプターを介した DA 放出減少などの要因が考えられる。

以上の結果を総合的に判断すると、第 1 章で認められた抗アレルギー薬の DA 取り込み阻害作用が in vivo 実験においても確認されたものと考えられる。ebastine や astemizole の投与時には、DA 神経機能高進に伴う中枢興奮症状の発現に注意を要するであろうし、oxatomide は D_2 受容体阻害作用と DA 取り込み阻害作用の相反する作用を有していることも考慮しておく必要がある。

Table 2-7
 ^{14}C 標識-抗アレルギー薬経口投与後のラット脳内放射能濃度

	投与量 (mg/kg)	μg eq. / g				
		0.5hrs	1hrs	2hrs	4hrs	6hrs
astemizole	3 mg/kg	0.022		0.035		0.032
ebastine	2 mg/kg		0.01	ND	0.01	
oxatomide	10 mg/kg	0.14	0.14	0.38		0.08
terfenadine	10 mg/kg	ND	ND	ND	ND	ND

ND: not detectable

4. 小活

第 1 章で認められた抗アレルギー薬の DA 取り込み阻害作用の行動薬理的検証を行った。

1) L-dopa と pargyline を投与したマウスの異常興奮行動、および tripeleennamine によるその増強作用はいずれも特異的 DA 受容体拮抗薬の pimozide により抑制されることから、DA 神経機能の変化を調べるのに有用なモデルであることが明らかとなった。

2) 上記モデルにおいて ebastine および astemizole は異常興奮行動を有意に増大させたが、oxatomide および terfenadine は増大させなかった。

3) apomorphine をマウスに投与したモデルにおいて、ebastine は有意に運動量を増加させたが、oxatomide は影響を与えなかった。

4) ebastine は haloperidol 誘発 catalepsy を減弱した。

5) oxatomide の単回投与では大量でも catalepsy を誘発することはなく、haloperidol 誘発 catalepsy にも影響は認められなかった。一方、oxatomide の連続投与時には haloperidol 誘発 catalepsy が増強された。

第3章 ラットにおける NE 血圧上昇反応に及ぼす ebastine の影響

NE の取り込み阻害薬である desipramine や nisooxetine によって NE の昇圧反応は濃度依存的に増強される (Tella et al., 1993)。また、 H_1 受容体拮抗薬の diphenhydramine や chlorpheniramine が NE の心血管系作用を増強することが報告されており、これには NE 取り込み阻害作用が関与していると考えられている (Isaac and Goth, 1967)。第1章の *in vitro* 実験で、ebastine は chlorpheniramine よりも若干強い NE 取り込み阻害作用を示すことがわかった。そこで、*in vivo* での効果を明らかにするために、ラットにおける NE 昇圧反応に対する ebastine の作用を検討した。

1. 実験材料および方法

1.1. 使用動物

体重 290-310 g の Wistar 系雄性ラット (清水実験材料, 京都) を使用した。ラットは実験の少なくとも一週間前から、室温 22 ± 2 °C、12 時間明暗サイクル (午前 6 時から午後 6 時まで明期) で飼育し、飼育期間中、固形飼料および水は自由に与えた。

1.2. 使用薬物

dl-NE はノルアドレナリン注 (三共) を用いた。heparin はヘパリンナトリウム注 N「シミズ」(清水) を用いた。urethane および dimethyl sulfoxide (DMSO) は石津製薬 (大阪) から購入した。ebastine は大日本製薬より提供された原末を用いた。ebastine は 100% DMSO に溶解後、生理食塩液で用時希釈し懸濁液として用いた。

1.3. 血圧測定

ラットに 30% urethane (1000 mg/kg) を腹腔内投与し麻酔をかけた。四肢を仰臥位に固定し、左頸静脈より PE10、左頸動脈より PE20 のポリエチレンチューブを挿管した。PE20 チューブは圧トランスデューサー (GOULD Statham Physiological Pressure Transducer) に接続し、血圧および心拍数の記録には POLYGRAPH SYSTEM (日本光電) を用いた。血圧および心拍数が安定した後、NE 2 μ g/kg を投与した。NE 投与 10 分後に ebastine 1 mg/kg を投与し、ebastine 投与 10 分後に再度 NE 2 μ g/kg を投与した。さらに 10 分後 ebastine 2 mg/kg を投与し、ebastine 2 mg/kg 投与 10 分後に NE 2 μ g/kg を投与した。ebastine および NE はいずれも頸静脈に挿管した PE10 チューブより注入した。

1.4. 解析

NE 投与前、NE 昇圧反応の peak 時および NE 投与 1 分後の血圧を測定し、repeated measure ANOVA 法を用いて有意差の検定を行った。

2. 実験成績

Fig. 3-1 に血圧および心拍数に対する ebastine の影響を代表的チャートで示した。左から順にそれぞれ、ebastine 投与前に NE 2 μ g/kg を投与した時の血圧および脈拍の変化、ebastine 1 mg/kg 投与時の変化、ebastine 1 mg/kg 投与 10 分後に NE 2 μ g/kg を投与した時の変化を示している。NE 投与後すぐに血圧は上昇しピークに達し、その 2~4 分後には血圧は元に回復した。しかし、ebastine 投与の前後で NE による血圧上昇および心拍数への影響に大きな変化はなかった。ebastine 投与時に一過性の血圧低下が見られたが、これは ebastine の溶解に用いた DMSO の影響であった。またノルアドレナリン注および ebastine の希釈に用いた生理食塩水の投与は血圧に対する影響を示さなかった。

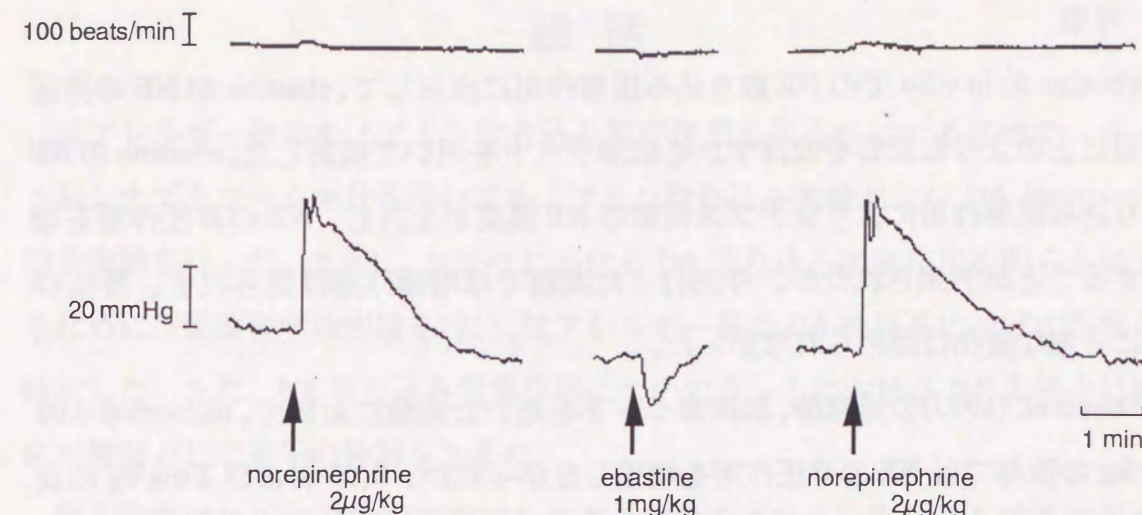


Fig. 3-1. Representative records of norepinephrine response in blood pressure and heart rate and effect of ebastine in rats anesthetized with urethane

Table 3-1 に ebastine 投与前、ebastine 1 mg/kg 投与後、ebastine 2 mg/kg 投与後の NE の昇圧反応について peak 時と NE 投与 1 分後の結果を示した。ebastine の投与により、麻酔ラットにおける NE の昇圧反応は増強されず、2 mg/kg 投与では有意な変化ではないが、むしろ抑制された。

Table 3-1

Effect of ebastine on norepinephrine (2 μ g/kg) increased blood pressure in rats anesthetized with urethane

	NE-induced change in blood pressure (mmHg)	
	peak	1 min after
before ebastine inj.	+38.2 \pm 3.2	+23.6 \pm 4.3
after ebastine 1mg/kg inj.	+38.9 \pm 4.6	+20.0 \pm 5.5
after ebastine 2mg/kg inj.	+33.0 \pm 3.0	+12.0 \pm 6.2

Each result represents the mean \pm S.E.M. of 3 animals.

3. 考察

ebastine の *in vitro* での NE 取り込み阻害作用に注目して、ebastine が NE の昇圧作用にどのような影響を及ぼすかを麻酔ラットを用いて検討した。ebastine の NE 取り込み阻害作用によりシナプス間隙の NE 濃度が上昇し、NE の昇圧作用を増強することが予測されたが、今回行った実験では増強作用は見られず、昇圧作用に有意な変化は認められなかった。

Tella et al. (1993)の無麻酔、無拘束ラットを用いた実験において、nisoxetine 0.01 mg/kg の投与では NE の昇圧作用を増強しなかったが、0.03 および 1 mg/kg の投与によりそれぞれ NE 応答が 40 % および 70 % 増強したことが報告されている。ebastine の NE 取り込み阻害作用は desipramine や nisoxetine と比較して 250 分の 1 以下と弱いため、今回用いた実験条件では NE の昇圧作用に影響しなかったものと考えられる。また ebastine は 0.3 および 1 mg/kg の高用量静脈内投与で麻酔イヌおよびネコの血圧を下降させ、心拍数を 3 mg/kg で減少させることが知られている (エバステル錠インタビューフォーム)。この作用の機序は不明であるが、これも ebastine による NE 昇圧反応の増強が認められなかったことに関与しているかもしれない。一方、ebastine の活性代謝物である carebastine は麻酔ネコの NE 反応を 3 mg/kg の静脈内投与で有意に増強する (エバステル錠インタビューフォーム)。carebastine は ebastine に比べ、NE 取り込み阻害作用が強い可能性も考えられ、これは今後の検討課題である。

4. 小活

in vitro における ebastine の NE 取り込み阻害作用を *in vivo* で明らかにするために、ラットにおける NE 血圧上昇反応に及ぼす ebastine の影響を検討したが、今回行った実験では ebastine による NE 昇圧作用の増強は認められなかった。

総括

抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用を明らかにする目的で、ラット脳シナプトソーム画分を用いてモノアミン取り込み実験および DA transporter 結合実験を行った。さらに、*in vivo* における DA 取り込み阻害作用を明らかにするために行動薬理学的実験を行い、抗アレルギー薬の DA 神経系に及ぼす影響を検討した。また、NE 取り込み阻害作用についてラットにおける NE 血圧上昇反応を指標として若干の検討を加えた。

第 1 章では *in vitro* において抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用を調べ、この作用が既に明らかになっている抗ヒスタミン薬 chlorpheniramine と比較検討した。その結果、塩基性抗アレルギー薬の多くがモノアミン取り込み阻害作用を示すことが明らかになった。また、各モノアミン取り込みに対する阻害の程度は抗アレルギー薬によってかなり異なった。ebastine は 3 種のモノアミン (DA, NE および 5-HT) の取り込みに阻害作用を示し、その K_i 値はいずれも 200 nM 前後であった。astemizole と oxatamide はモノアミンのうち 5-HT に対する取り込み阻害作用が最も強く、ついで NE, DA の順であった。astemizole は抗アレルギー薬 10 種の中で最も強力な 5-HT 取り込み阻害作用を示したが、chlorpheniramine と比較すると、その作用は約 14 分の 1 であった。terfenadine は DA に対する取り込み阻害作用が最も強く、ついで NE, 5-HT の順であった。terfenadine の DA 取り込み阻害作用は ebastine の約 2 分の 1 であった。azelastine はモノアミンのうち 5-HT に対する取り込み阻害作用が最も強く、ついで DA, NE の順であったが、その程度はどれも弱かった。ketotifen は NE および 5-HT に取り込み阻害作用を示し、emedastine および epinastine はそれぞれ NE および 5-HT のみに取り込み阻害作用を示したが、その程度は弱かった。酸性抗アレルギー薬の pemirolast と tranilast は 10 μ M の濃度でも DA, NE および 5-HT のいずれに対しても取り込み阻害作用を示さなかった。抗アレルギー薬は DA transporter リガンドの [3 H] GBR12935 結合も抑制し、その程度と [3 H] DA 取り込み阻害作用の程度の間には強い相関関係が認められた。

抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用を、各モノアミンに対する代表的な取り込み阻害薬において報告された結果と比較すると、ebastine の DA 取り込み阻害作用は amphetamine や cocaine に近いことがわかり、この作用がこれら薬物の中枢作用発現に寄与している可能性が考えられた。

第2章では in vitro 実験で認められた抗アレルギー薬の DA 取り込み阻害作用が、in vivo 実験でもその様な効果が認められるかを明らかにするために、これらの薬物が DA 関連行動にどのような影響を及ぼすかを調べた。L-dopa と pargyline を投与したマウスの異常興奮行動、および tripeleennamine によるその増強作用はいずれも特異的 DA 受容体拮抗薬の pimozide により抑制されることから DA 神経機能の変化を調べるのに有用なモデルであることが明らかとなった。上記モデルにおいて ebastine および astemizole は異常興奮行動を有意に増大させた。また、apomorphine をマウスに投与したモデルにおいて、ebastine は有意に運動量を増加させた。さらに、ebastine はマウスの haloperidol 誘発 catalepsy を減弱した。以上の結果は ebastine による DA 神経機能の高進を行動薬理的に支持するものである。

oxatomide は chlorpromazine の約 5 分の 3 程度の D_2 受容体拮抗作用を有していることが報告されているが、大量でも catalepsy を誘発することはなく、haloperidol 誘発 catalepsy にも影響しなかった。一方、oxatomide の連続投与時には haloperidol 誘発 catalepsy が増強された。その機序は明らかではないが、シナプス間隙 DA 量の長期増加による DA receptor の down-regulation やオートレセプターを介した DA 放出減少などの要因により、 D_2 受容体阻害作用による DA 神経機能抑制が、DA 取り込み阻害作用による DA 神経機能高進を上回ってくるためと考えられた。

第3章では in vitro における ebastine の NE 取り込み阻害作用を in vivo で明らかにするために、ラットにおける NE 血圧上昇反応に及ぼす ebastine の影響を検討したが、今回行った実験では ebastine による NE 昇圧作用の増強は認められなかった。

抗アレルギー薬は長期間連用されることが多く、薬物動態学的相互作用を含

めてその副作用には十分注意しておかなければならない。また、アトピー性皮膚炎や気管支喘息などの疾患で小児に投与されることも多いことを考慮すると中枢への移行性が低いものでも、その中枢性副作用を軽視することはできない。特に ebastine や astemizole の投与時には、DA 神経機能高進に伴う中枢興奮症状の発現に注意を要するであろうし、oxatomide は D_2 受容体阻害作用と DA 取り込み阻害作用の相反する作用を有していることも考慮しておく必要がある。本研究で明らかになった抗アレルギー薬のモノアミン取り込み阻害作用は、抗アレルギー薬の薬理作用の理解を深め、副作用を予測し、さらに併用による有害な相互作用を防止するために重要な、適正使用のための基礎的情報である。

参 考 文 献

- Andersen PH, Biochemical and pharmacological characterization of [³H]GBR12935 binding in vitro to rat striatal membranes: labeling of the dopamine uptake complex., *J Neurochem*, 48, 1887-1896 (1987)
- Awouters FHL, Niemegeers CJE and Janssen PAJ, Pharmacology of the specific histamine H₁-antagonist astemizole., *Arzneim Forschung*, 33(I), 381-388 (1983)
- Billard W, Ruperto V, Crosby, Gordon, Iorio LC and Barnett A. Characterization of the binding of ³H-SCH23390, a selective D-1 receptor antagonist ligand, in rat striatum., 35, 1885-1893 (1984)
- Brown PA and Vernikos J, Antihistamine effect on synaptosomal uptake of serotonin, norepinephrine and dopamine., *European J Pharmacol*, 65, 89-92 (1980)
- Butch AJ, Yokel RA, Sigell LT, Hanenson IB and Nelson ED. Abuse and pulmonary complication of injecting pentazocine and tripeleminamine in tablets., *Clin Toxicol*, 14, 301-306 (1979)
- Cheng YC and Prusoff WH, Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 percent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction., *Biochem Pharmacol*, 22, 3099-3108 (1973)
- Coombs RRA and Gell PGH, Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease., In, *Clinical Aspects of Immunology*, Blackwell Scientific Publications (Oxford), 761 (1975)
- Coyle JT and Snyder SH, Antiparkinsonian drugs: inhibition of dopamine uptake in the corpus striatum as a possible mechanism of action, *Science*, 166, 899-901 (1969)
- Daele MCV, Eggermont E, Casaer EP, Casseye WV and Boeck K, Acute dystonic reactions and long-lasting impaired consciousness associated with oxatomide in children., *Lancet*, 1, 1204-1205 (1986)
- Fügner A, Bechtel WD, Kuhn FJ and Mierau J, In vitro and in vivo studies of the non-sedating antihistamine epinastine., *Arzneim Forschung*, 38(II), 1446-1453 (1988)
- Fujii T, Matsumoto S, Amejima H, Hatoyama T, Nakao M, Kagemoto A, Tanaka K, Miyazaki H, Absorption, distribution, metabolism and excretion of [¹⁴C]ebastine after single administration in rats., *Arzneim Forschung*, 44(4), 527-538 (1994a)
- Fujii T, Tanaka K, Matsumoto S, Hatoyama T, Nomura N, Tagawa M, Miyazaki H, Absorption, distribution, metabolism and excretion of [¹⁴C]ebastine after repeated oral administration in rats., *Arzneim Forschung*, 44(4), 538-543 (1994b)
- Glowinski J and Iversen LL, Regional studies of catecholamines in the rat brain. I. The disposition of [³H]norepinephrine, [³H]dopamine and [³H]dopa in various regions of the brain., *J Neurochem* 13, 655-669 (1966)

Imiya M, An elderly case of extrapyramidal reactions associated with oxatomide., *Neurol Med*, 37, 635-636 (1992)

Issac L and Goth A, The mechanism of the potentiation of norepinephrine by antihistaminics., *J Pharmacol Exp Ther*, 156, 463-468 (1967)

Janssen PA, Niemegeers CJ, Schellekens KH, Dresse A, Lenaerts FM, Pinchard A, Schaper WK, Nueten JM, Verbruggen FJ, Pimozide, a chemically novel, highly potent and orally long-acting neuroleptic drug. I. The comparative pharmacology of pimozide, haloperidol, and chlorpromazine., *Arzneim Forsch*, 18(III), 261-279 (1968)

Laduron PM, Janssen PFM, Gommeren W and Leysen JE, In vitro and in vivo binding characteristics of a new long-acting histamine H₁ antagonist, astemizole., *Mol Pharm*, 21, 294-300 (1982)

Leeson GA, Chan KY, Knapp WC, Biedenbach SA, Wright GJ and Okerholm RA, Metabolic disposition of terfenadine in laboratory animals., *Arzneim Forsch*, 32(II), 1173-1178 (1982)

Leysen JE and Gommeren W, Drug-receptor dissociation time, new tool for drug research: Receptor binding affinity and drug-receptor dissociation profiles of serotonin-S₂, dopamine-D₂, histamine-H₁ antagonists, and opiates., *Drug Develop Res*, 8, 119-131 (1986)

Lidbrink P, Jonsson G and Fuxe K, The effect of imipramine like drugs and antihistamine drugs on uptake mechanisms in the central noradrenaline and 5-hydroxytryptamine neurons., *Neuropharmacology* 10, 521-536 (1971)

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ, Protein measurement with the folin phenol reagent., *J Biol Chem*, 193, 265-275 (1951)

Nakachi N, Kiuchi Y, Inagaki M, Inazu M, Yamazaki Y and Oguchi K, Effects of various dopamine uptake inhibitors on striatal extracellular dopamine levels and behaviours in rats., *Eur J Pharm*, 281, 195-203 (1995)

Oishi R, Shishido S, Yamori M and Saeki K, Comparison of the effects of eleven histamine H₁-receptor antagonists on monoamine turnover in the mouse brain., *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol*, 349, 185-189 (1994)

Richelson E and Pfenning M, Blockade by antidepressants and related compounds of biogenic amine uptake into rat brain synaptosomes: Most antidepressants selectively block norepinephrine uptake., *Eur J Pharm*, 104, 277-286 (1984)

Rogóz Z, Skuza G, Sowinska H, The effect of the antihistaminic drugs on the central action of 5-hydroxytryptophan in mice., *Pol J Pharmacol Pharm*, 33, 459-465 (1981)

Shishido S, Oishi R, and Saeki K, In vivo effects of some histamine H₁-receptor antagonists on monoamine metabolism in the mouse brain., *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 343, 185-189 (1991)

Showalter CV and Moore L, Abuse of pentazocine and tripeleminamine., *JAMA*, 239, 1610-1612 (1978)

Suzuki T, Masukawa Y, and Misawa M, Drug interactions in the reinforcing effects of over-the-counter cough syrups., *Psychopharmacology (Berlin)*, 102, 438-442 (1990)

Suzuki T, Masukawa Y, Shiozaki Y and Misawa M, Potentiation of pentazocine conditioned place preference by tripeleminamine in rats., *Psychopharmacology (Berlin)*, 105, 9-12 (1991)

Tella SR, Schindler CW, Goldberg SR, Cocaine: Cardiovascular effects in relation to inhibition of peripheral neuronal monoamine uptake and central stimulation of the sympathoadrenal system., *J Pharm Exp Therap*, 267, 153-162 (1993)

Tuomisto J. and Tuomisto L, Effects of histamine and histamine antagonists on the uptake and release of catecholamines and 5-HT in brain synaptosomes., *Med Biol*, 58(1), 33-37 (1980)

Yokoyama H, Iinuma K, Yanai K, Watanabe T, Sakurai E and Onodera K, Proconvulsant effect of ketotifen, a histamine H₁ antagonist, confirmed by the use of d-chlorpheniramine with monitoring electroencephalography., *Meth Find Exp Clin Pharmacol*, 15, 183-188 (1993)

Young CS, Mason R, Hill SJ, Inhibition by H₁-antihistamines of the uptake of noradrenaline and 5-HT into rat brain synaptosomes., *Biochem Pharmacol*, 37, 976-978 (1988)

大森 健森, 石井 秀衛, 周藤 勝一, 中溝 喜博, Oxatomide (KW-4354)の薬理作用 (第6報) 呼吸・循環器系および消化器系等におよぼす影響ならびに抗原性の有無について, *日薬理誌*, 81, 79-104 (1983)

柴田 邦彦, 平野 豊, 藤野 明治, 嶋津 美幸, 永川 伸子, 井上 かおる, 上村 家顕, 14C-Oxatomide のラットにおける生体内動態試験, *薬理と治療*, 12(9), 3887-3903 (1984)

本研究内容の発表および発表予定論文

- 1) Sato T, Suemaru K, Matsunaga K, Hamaoka S, Gomita Y and Oishi R, Potentiation of L-dopa-induced behavioral excitement by histamine H₁-receptor antagonists in mice., *Jpn J Pharmacol*, 71, 81-84 (1996)
- 2) Matsunaga K, Sato T, Shuto H, Tsuruta Y, Suemaru K, Gomita Y and Oishi R, Inhibition of neuronal dopamine uptake by some antiallergic drugs. (投稿中)

その他投稿準備中

参考論文

- 1) Shuto H, Kataoka Y, Kanaya A, Matsunaga K, Sueyasu M and Oishi R, Enhancement of serotonergic neural activity contributes to cyclosporine-induced tremors in mice., *Eur J Pharm* (in press)
- 2) Takata J, Karube Y, Hanada M, Matsunaga K, Matsushima Y, Sendo T and Aoyama T, Vitamin K prodrugs: 1. Synthesis of amino acid esters of menahydroquinone-4 and enzymatic reconversion to an active form., *Pharm Res*, 12, 18-23 (1995)
- 3) Takata J, Karube Y, Hanada M, Matsunaga K, Matsushima Y, Sendo T and Oishi R, Vitamin K prodrugs: 2. Water-soluble prodrugs of menahydroquinone-4 for systemic site-specific delivery., *Pharm Res*, 12, 1973-1979 (1995)
- 4) Takata J, Karube Y, Hanada M, Matsunaga K, Matsushima Y, Bioreductive activation-independent delivery of menahydroquinone-4 via prodrug and its action in warfarin-poisoned rat liver., *Pharm Sci*, 2, 571-576 (1996)
- 5) Karube Y, Katsuno K, Takata J, Matsunaga K, Haruno M, Kuroki M, Arakawa F, Matsuoka Y and Kanda H, Radioimmunosciintigraphy using technetium-99m-labeled parental mouse and mouse-human chimeric antibodies to carcinoembryonic antigen in athymic nude mice bearing tumor., *Nuclear Med Biol*, 23, 753-759 (1996)
- 6) Haruno M, Kuroki M, Matsunaga K, Takata J, Karube Y, Senba T, Murakami M, Arakawa F, Kuwahara M, Ozaki H, Matsuoka Y, Okazaki M and Kanda H, Tumor-specific accumulation of ¹²⁵I-labeled mouse-human chimeric anti-CEA antibody in a xenografted human cancer model demonstrated by whole-body autoradiography and immunostaining., *Nuclear Med Biol*, 23, 821-826 (1996)

謝 辞

本研究の機会を与えてくださり、終始懇切な御指導と御教示を賜りました九州大学医学部附属病院薬剤部長 大石了三教授、同副部長 片岡泰文助教授に謹んで感謝の意を表します。

本論文を査読して頂き、貴重なる御意見と御校閲を賜りました九州大学薬学部 渡辺繁紀教授、ならびに澤田康文教授に深く感謝致します。

本研究の遂行にあたり、御指導と御協力を頂きました九州大学医学部附属病院薬剤部 首藤英樹氏、佐藤智昭氏、および医薬品情報解析学講座 金谷朗子さん、鶴田由貴さんに深く感謝いたします。

また、本研究にご協力いただきました岡山大学医学部附属病院薬剤部 五味田裕教授、末丸克矢博士、濱岡主巳子女史、ならびに岡山大学薬学部 川崎博己教授、さらに九州大学医学部附属病院薬剤部の諸先生方、および医薬品情報解析学講座の皆様方に謹んで感謝の意を表します。

