

19)

マウス骨髄由来肥満細胞をもちいた和漢薬の ヒスタミン遊離抑制効果の検討

国立小児医療研究センター・アレルギー研究部門

○斎藤博久、七条孝三郎、大宜味亜谷子、斎藤恵美子、永倉俊和、飯倉洋治

目的：和漢薬のような複合物の作用をin vitroで検討する際に細胞などの実験系がpureでないと結果の解釈が困難となる可能性がある。マウスの骨髄をインターロイキン3の存在下で培養すると大量のpureな肥満細胞を得ることができるが、今回はこのマウス骨髄由来培養肥満細胞（BMMC）を抗原あるいはトロンピンにて刺激した時のヒスタミン遊離におよぼす和漢薬の効果について検討した。

方法：8週齢CBA/J マウスより大腿骨骨髄を採取し30% WEHI-3細胞株培養上清の存在下で4週間培養し、ほぼ100%の純度の大量の肥満細胞を得た。この細胞を $2 \times 10^6/\text{ml}$ に浮遊させ $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ の抗DNP IgE抗体を添加し12時間培養し受動感作した。細胞を洗浄後タイロド液に浮遊させ麻杏甘石湯、消風散、小柴胡湯（DMSOにて $20\text{mg}/\text{ml}$ に融解した）を添加10分間反応させた後、抗原（DNP-HSA） $10\text{ng}/\text{ml}$ あるいはトロンピンを $0.1 \text{ NIHunit}/\text{ml}$ となるように加えヒスタミン遊離をおこさせこれらの和漢薬のヒスタミン遊離抑制効果をみた。

結果：抗原刺激により40-80%、トロンピン刺激により20-60%のヒスタミン遊離が認められた。 $40 \mu\text{g}/\text{ml}$ あるいは $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ の消風散の前処置により抗原刺激によるヒスタミン遊離はそれぞれ $44 \pm 8\%$ そして $25 \pm 6\%$ 抑制された。しかしトロンピン刺激によるヒスタミン遊離はそれぞれ $18 \pm 3\%$ そして $10 \pm 2\%$ しか抑制されなかった。麻杏甘石湯にても同様の抑制効果が認められたが、小柴胡湯の場合は抑制効果は弱かった。

考察：BMMCは容易に大量培養が可能で各種刺激による反応性が強く、薬剤のヒスタミン遊離抑制効果をみるのに有用な細胞であると思われる。細胞内cAMPを上昇させる薬剤のヒスタミン遊離抑制効果がよく知られているが、著者らはcAMPを上昇させる薬剤でもフォルスコリンとコレラ毒素、8-Br-cAMPではヒスタミン遊離におよぼす影響はそれぞれ異なっていて、ときにヒスタミン遊離を増強させることがあることをすでに報告している（PNAS 85:2504,1988）。

今回複合和漢薬を用いた実験ではヒスタミン遊離を抑制する成分と増強する成分が拮抗している可能性もあるので、現在、各成分について検討を行なっている。