OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ラット後肢足蹠浮腫及びフェルトペレット惹起肉芽形成における急性炎症経過各期の相互関連性
Author(s)	中村, 秀雄
Citation	大阪大学, 1975, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31258
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【14】

氏名・(本籍)	中村秀雄
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第3389号
学位授与の日付	昭和50年3月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	ラット後肢足蹠浮腫及びフェルトペレット惹起肉芽形成における急性炎症経過各期の相互関連性
論文審査委員	(主査) 教授 青沼繁 (副査) 教授 近藤雅臣　教授 岩田平太郎　教授 上原喜八郎

論文内容の要旨

第一編　緒　論

発赤，腫張，熱，痛み，そして機能障害を主徴候とする炎症は，生体の細胞組織に何らかの器質的変化をもたらす侵襲に対し，生体が再生・修復などの防衛反応をもってこたえる，すなわち，傷害に対する生体の基本的な反応と考えられる。一方，炎症には，慢性関節リウマチ等の疾患にみられる如く，炎症そのものが生体にとって有害な反応となる。すなわち過剰防衛的な一面もある。炎症の経過ならびに種類は，その原因となる催炎性刺激の種類・強さ・持続時間，炎症の発生した組織あるいは臓器の性状，個体の性質・抵抗力などにより規定される。従って，炎症性疾患は外傷，感染症から自己免疫疾患迄多種多様を極める。この様な炎症反応を画一的にとらえることは困難であるが，特に急性炎症の経過は一般的に3つの時期に分けられている。有害刺激により血管壁透過性亢進が惹起される時期を第一期とし，白血球の粘着・遊走を伴った時期を第二期，そして細胞浸潤・肉芽増殖を伴った時期を第三期とする。しかしながら，これら各炎症時期の如何なる関連の上に炎症反応が構成されているのかは必ずしも明確ではない。つまり，各炎症時期は独立して存在し，各時期の単純和として炎症反応が構成されるのか，あるいは夫々前の時期が後の時期のひきがねとなり炎症反応が連続的に進展するのかと云うことである。[1]

抗炎症剤の薬理学的評価に際して，各炎症時期に対応した，あるいは総ての時期を含む実験的炎症病態モデルが作製され，それらの病態モデルを使って薬効の評価がなされている。[2] 従って，急性炎症経過時期の相互関連性を明らかとすることは，抗炎症剤の薬理学的評価ならびに作用機序・作用形式の解析の上に大きな意味を有すると考える。

著者は以上述べた点に着目し，実験動物における急性炎症経過各時期の相互関連性を追究するとともに，炎症経過を考慮した実験的炎症病態モデルの開発を行い，それらの病態モデルを使用して諸種抗炎症剤の作用形式の相違を明らかとした。

第二編　本　　論

第一章　浸出性炎症に対する諸種薬剤の影響

急性炎症経過の第一期の即時型 chemical mediator 惹起血管壁透過性亢進に対する抗炎症剤の抑制作用をマウスを用いて検討した。試験薬剤の中で aminopyrine が最も強い効力を示し，phenylbutazone はほとんど無効であった。使用した chemical mediators の中で，特に bradykinin に対する試験薬剤の抑制作用がより強力であった。

急性炎症経過の第一期の遅発持続型の実験的炎症病態モデルとしてラット Scald oedema（熱湯性浮腫）法を開発し，この Scald oedema に対する諸種薬剤の影響を検討した。 Scald oedema（後肢足を53℃ の温湯に14 秒間浸漬）は，初期（浸漬1 時間迄）に弱い肩を有し，7 時間後に最大腫脹を示す比較的持続の長い浮腫であった。浸漬7 時間後における炎症足の白血球の遊走は軽度であった。Phenylbutazone, Aspirin, flufenamic acid および cortisone acetate は，Scald oedema の初期に対して有意な腫脹抑制作用を示さないが，4 時間後以降に強い抑制作用を示した。これに対して aminopyrine は，初期を強く抑制したが7 時間後の抑制は軽度であった。7 時間後での抑制効力は，非ステロイド剤の中で phenylbutazone が最も強力であった。マウス Scald oedema 惹起の最適条件は，54℃，12 秒間であり，試験抗炎症剤の中で，aminopyrine だけが強い抑制効力を示した。マウス腫脹最大時における炎症足の白血球の遊走は極く軽度であった。

以上の結果から，phenylbutazone 等の抗炎症剤は，histamine 型の血管壁透過性亢進に対する抑制作用は弱く，白血球の遊走を伴った浸出性炎症を良く抑制することが明らかとなるとともに，これらとは反対に aminopyrine は前者を強く抑制するが，後者に対しては比較的弱い抑制作用しか示さないこと，すなわち，aminopyrine と他の抗炎症剤との Scald oedema に対する作用形式の相違が明らかとなった。

第二章　後肢足浮腫の初期相と後期相との相互作用

Vinegar ら[3] は，carrageenin および kaolin 惹起ラット後肢足浮腫が二相性であることを報告しており，又，多くの研究者は，[4] carrageenin 浮腫の初期相は histamine により，又，後期相は kinins および prostaglandins により仲介されることを報告している。そこで，急性炎症経過第一期の主要な chemical mediator である histamine および serotonin 惹起浮腫と白血球の遊走を伴った第二期の炎症としての carrageenin および kaolin 惹起浮腫との関連性について検討した。

Histamine ＋ serotonin によるラット後肢足浮腫の発現は早く（注射後30 分が最大），且つ持続は短かった。

Carrageenin ＋ kaolin による浮腫は，histamine 型の初期相と起炎剤注射3～5 時間後を最大腫脹とする後期相との二相性を示した。Carrageenin ＋ kaolin に histamine および serotonin を加えることにより carrageenin ＋kaolin 浮腫の初期相を増強したにかかわらず，その後期相はほとんど影響を受けな

かった(Fig. 1)。

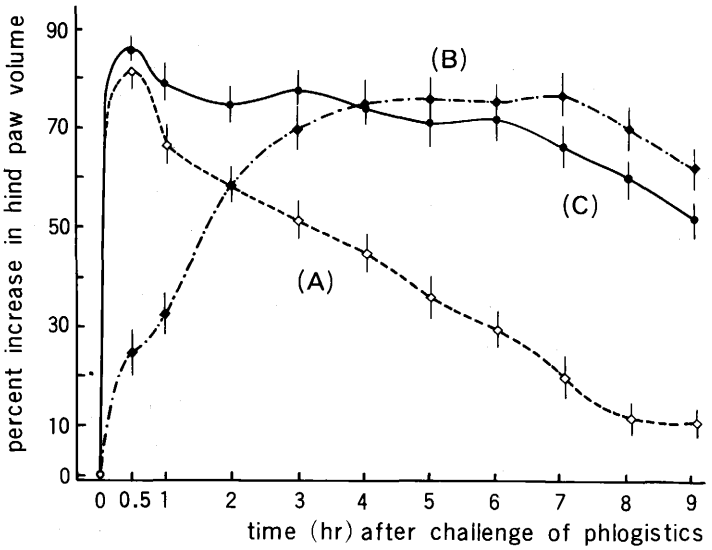

Fig. 1 Influence of the eally on the delayed phase of hind paw swelling.
(A) ; serotonin creatine sulfate (0.01 mg) + histamine 2HCl (0.1 mg).
(B) ; carrageenin (0.5 mg) + kaolin (5 mg). (C) ; (A) + (B).

第三章 後肢足浮腫の初期相および後期相に対する諸種薬剤の影響

0.1% Histamine·2HCl, 0.01% serotonin creatinine sulfate, 0.5% carrageenin および5% kaolin の4種混合起炎剤惹起ラット後肢足浮腫, Mixed oedema に対する諸種薬剤の影響を検討した。Mixed oedema は, 起炎剤注射30分後に腫脹最大(約80%)を示し, 強い腫脹が長時間持続する浮腫であった。Mixed oedema に対して, 抗 histamine 剤および抗 serotonin 剤は, 後期相(注射4時間後以降)に影響することなく初期相(注射1時間後迄)のみを著明に抑制した。Flufenamic acid および prednisolone は, 初期相に影響することなく後期相を著明に抑制した。特に prednisolone の効力は顕著であった。Phenylbutazone は後期相を軽度に抑制したが, indomethacin および Aspirin は両相に対してほとんど活性を示さなかった(Fig. 2)。後期相を特徴的に抑制する flufenamic acid と初期相を特徴的に抑制する diphenhydramine との併用効果を検討したところ, 後期相に対して相剰作用が観察された。

以上の結果から, Mixed oedema の初期相と後期相は夫々独立した存在であることが示唆されるとともに, 初期相の存在が後期相の薬剤治療効果に大きく影響することが明らかとなった。加えて, Mixed oedema 法が, 抗 histamine 剤, 抗 serotonin 剤および抗炎症剤の検定方法ならびに抗炎症剤の作用形式検討の為の実験的炎症病態モデルとして有用であることが示唆される。

第四章 増殖性炎症におよぼす諸種起炎剤の影響

急性炎症経過の第三期の実験的炎症病態モデルとして, 異物植え込み法による肉芽形成反応を使用した。ラットの背部皮下に滅菌 felt-pellet を植え込むと, 形成肉芽量は, 植え込み3日から7日後に最大となり, 8日後より退縮し始め, 10日後以降一定となった(Fig. 3)。50～80%のラット後肢足浮浮腫を惹起する量の histamine あるいは serotonin を注入した pellet を植え込んだが, 形成肉芽量は sa-

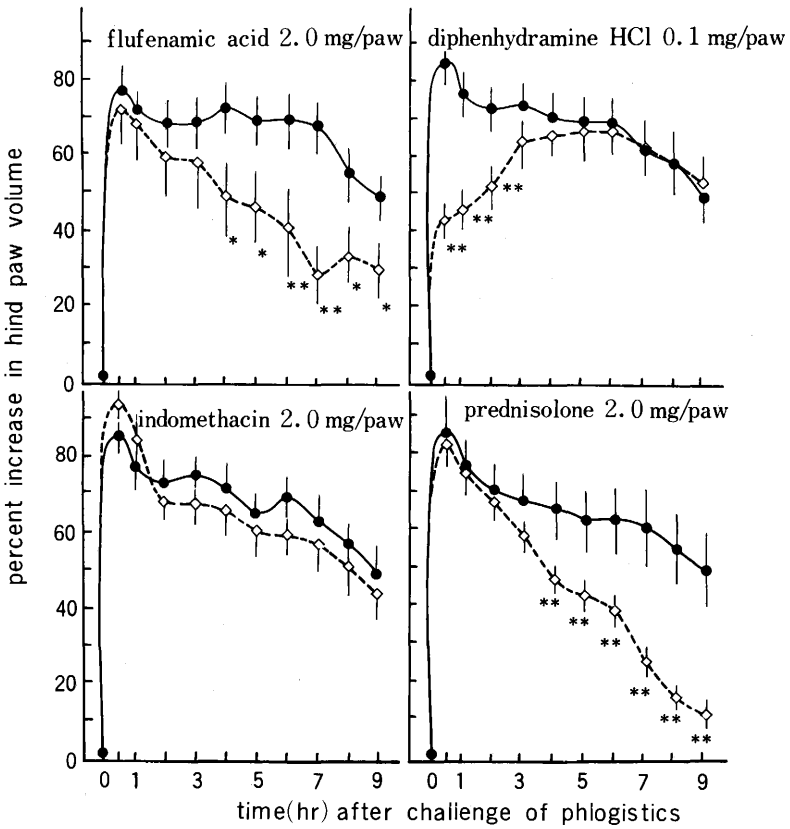

Fig. 2 Effect of antihistaminic and anti-inflammatory agents on the mixed phlogistics-induced hind paw edema. *: $0.01 < P < 0.05$, **: $P < 0.01$ from each control.

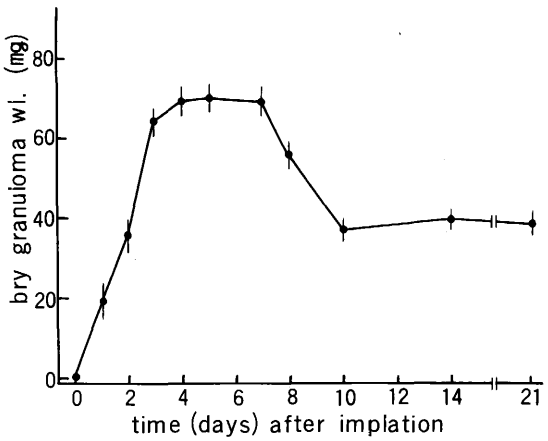

Fig. 3 Time course of granuloma formation induced by feltpellets. Each point and vertical bar represent the mean and S. E. of 4-7 rats, respectively.

line 注入 pellet 群との間に有意差を認めなかった。一方，carrageenin あるいは yeast 注入 pellet 群は，saline 注入 pellet 群に比較して有意な形成肉芽量の増加を認めた。

以上の結果から，肉芽形成がhistamine型の血管壁透過性亢進時期と直接関連性を有しないが，白血球の遊走を伴う時期とは関連性を有することが示唆される。

第五章　増殖性炎症におよぼす慢性浸出性および増殖性炎症の影響

同一または異なった刺激が，同一個体の異なった部位に加えられた場合に炎症反応の減弱が起こること，また，granuloma 浸出液あるいは sponge 浸出液より消炎性物質または irritant factors が見出されている[5]。これらの事実は生体に炎症反応が惹起されたときに，何らかの消炎物質の産生が起こることを示唆する。

Yeast 惹起浸出性および増殖性炎症あるいは adjuvant 惹起後肢足浮腫および関節炎を有するラットに felt-pellet を植え込み，肉芽形成におよぼす他の慢性炎症の影響について検討した。Yeast 惹起肉芽嚢腫の場合には形成肉芽量の減少傾向を認めた。Adjuvant 惹起後肢足浮腫（adjuvant を後肢足蹠皮下に注射）には影響を認めなかったが，adjuvant 惹起関節炎（adjuvant を尾皮内に注射）の場合に肉芽形成の著明な促進を見出した。一方，初めの felt-pellet 植え込み後3日または6日目に同一ラットに更にもう一つの felt-pellet を植え込んだ場合，2回目の pellet による形成肉芽量は，単回植え込みの場合に比べ有意な増加が観察された。この肉芽形成の促進現象は，初めの pellet 植え込み後14日目に2回目の pellet が植え込まれた場合には観察されず，また副腎摘出ラットにおいても観察出来なかった。更に，二重植え込みの1回目の pellet による肉芽形成の time-course は単回植え込みの場合の time-course（Fig. 4）に類似した。

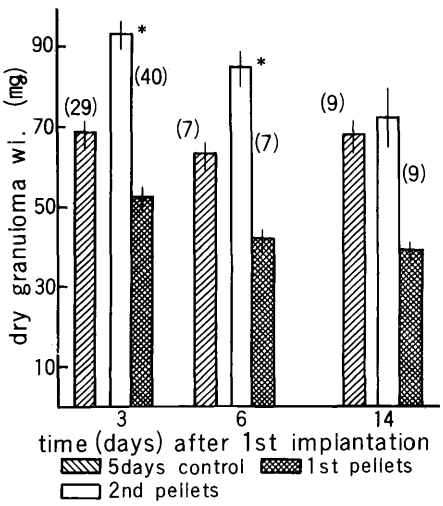

Fig. 4　Effect of the first implanted felt-pellets on granuloma formation induced by the second implanted felt-pellets. One felt-pellet (2nd pellet) was implanted 3, 6 or 14 days following the 1st pellets implantation in the same rat, and 5 days later the granulomas were removed. In 5 days control group, the granulomas were removed 5 days after the 1st implantation. Vertical bar represents the standard error. * significantly different from each 5 days control group ($p<0.05$); number of used rats in parentheses.

Felt-pellet 二重植え込みによる肉芽形成の促進現象は全く新しい知見であり，促進現象の作用点は肉芽形成の初期段階にあること，そして，促進現象に副腎の関与が示唆される。

第六章　増殖性および促進性増殖性炎症に対する抗炎症剤の影響

初めの felt-pellet 植え込み3日後に2回目の felt-pellet 植え込みを行い，その5日後に全肉芽腫を摘出した。2回目に植え込まれた pellet による肉芽形成を促進性肉芽形成と称し，単回植え込み5日

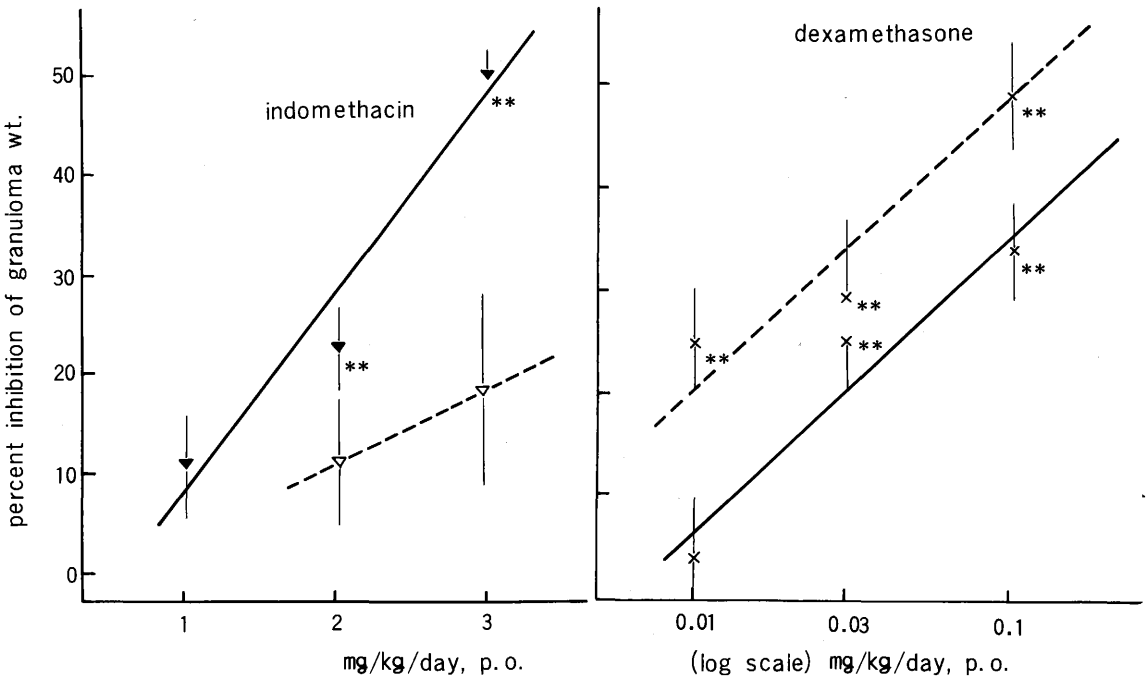

Fig. 5 Effects of steroidal and non-steroidal anti-inflammatory agents on usual(——) and accelerated(------) granuloma formations. ** : $P<0.01$ from each control

後に肉芽腫を摘出した場合の肉芽形成を通常肉芽形成と称する。これら両肉芽形成に対する抗炎症剤の抑制作用を検討した結果，通常肉芽形成を20% 抑制するに必要な用量は，indomethacin，flufenamic acid，phenylbutazone および Aspirin で夫々1.4，18.5，20.0 および700 mg/kg/day，p. o.であったが，促進性肉芽形成に対するこれら非ステロイド性抗炎症剤の抑制作用を著しく弱く，flufenamic acid 60 mg/kg/day，および phenylbutazone 100 mg/kg/day 投与群に有意な効果を認めたにすぎなかった。一方，prednisolone および dexamethasone の通常肉芽形成に対する20% 抑制量量は，夫々2.5 および0.03 mg/kg/day，p. o. であり，促進性肉芽形成に対して prednisolone および dexamethasone は，通常肉芽形成と同程度のないし通常肉芽形成よりも強い抑制作用を示した。二重植え込みの1回目に植え込まれた pellet による肉芽形成に対する抑制作用はステロイド性および非ステロイド性薬剤とも軽度であった (Fig. 5)。

以上の結果は，促進性肉芽形成が通常肉芽形成と量的のみならず質的にも異なることを示唆するとともに，非ステロイド性抗炎症剤の抗肉芽形成作用の作用形式がステロイド性抗炎症剤と異なることを示唆する。加えて，促進性肉芽形成法が，抗炎症剤の抗肉芽形成作用の検定方法として有用であることを示唆する。

第三編　考　　察

以上の実験結果を考察した結果，急性炎症経過の第一期，第二期および第三期の相互関連性について Fig. 6 の様な仮説がたてられる。炎症の第二期は第三期にかなり影響力を有するが，各炎症時期は

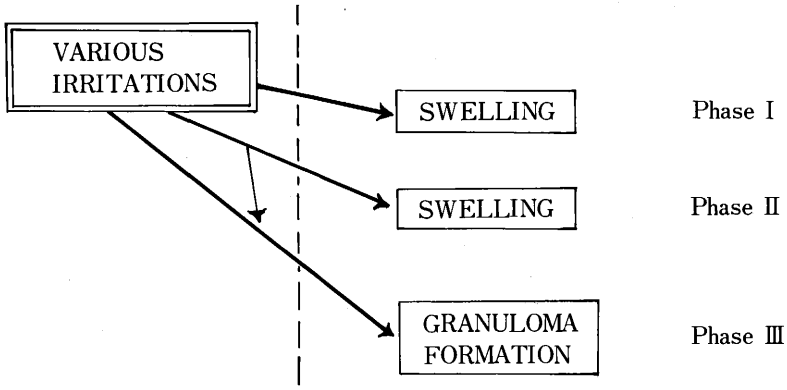

Fig. 6 A schematic representation for interrelation among the phases in acute inflammatory process

基本的に独立した刺激により惹起され，その病態学的変化の出現時間が異なるとするものである。しかしながら，第一期と第二期は全く無関係ではなく，Mixed oedema に対して，carrageenin 足浮腫を著明に抑制する indomethacin 等の抗炎症剤の抑制効力が著しく弱かったこと，および抗炎症剤と抗 histamine 剤の併用により相剰効果が認められたことなどから，第二期の薬剤治療に際して，第一期の強弱が大きく影響する場合のあることは明らかである。

		Non-steroidal agents				Steroidal agents
		Amino.	Aspir. Ibufe.	Pheny. Flufe.	Indom.	
Phase I	Scald oedema [a] Mixed oedema [b]	+	±	±	−	−
	Scald oedema [c]	+	+	+		+++
Phase II	Carrageenin oedema [d]	+	++	+++	++++	+++
	Mixed oedema [e]	−	±	+～++	−	+++
Phase III	Usual granuloma formation	−	+	++	++++	+++
	Accelerated granuloma formation	−	−	−	−	++++

a)：in mice, containing "vascular permeability" in mice, b)：early phase, c)：in rats, d)：in rats, e)：delayed phase

Fig. 7 Effect of anti-inflammatory agents against each qhase in acute inflammatory process in mice and rats

急性炎症経過各期に対する諸種抗炎症剤の作用態度を Fig. 7 に模式化した。Indomethacin 等の非ステロイド性抗炎症剤が，Mixed oedema の後期相および促進性肉芽形成に対してほとんど活性を示さず，ステロイド剤が著効を示したことは，現在の抗炎症剤の臨床適応が一部には免疫機構のからんだ複数の炎症反応からなる慢性関節リウマチおよびその類縁疾患に向けられていること，そして，これらに対して特にステロイド剤が卓効を示すこと等を考慮するとき，大変興味が持たれる。

第四編　結　　論

ラット後肢浮腫ならびに felt-pellet 惹起肉芽形成を主体とした実験的炎症病態モデルを使用して，急性炎症経過各期の相互関連性ならびに各期に対する抗炎症剤の作用形式の相違を明らかとするべく検討した結果以下の結論を得た。急性炎症経過の第一期は第二期および第三期から独立して存在すること，第一期は第二期の薬物治療に大きく影響する場合のあること，第二期は第三期の進展に部分的に関与していることが明らかとなった。更に，第三期の炎症反応が同じ第三期の炎症反応を増強する現象，すなわち，増殖性炎症の促進現象が見出された。Felt-pellet 二重植え込みによる促進現象の発現に副腎の関与があること，およびその作用点は肉芽形成の初期段階にあることが明らかとなった。一方，実験的炎症病態モデルとしての Scald oedema 法，Mixed oedema 法および促進性肉芽形成法を開発し，これらの病態モデルを使用してステロイド性および非ステロイド性抗炎症剤の作用形式の相違を明らかとなした(Fig. 7)。中でも Mixed oedema 法および促進性肉芽形成法は，抗炎症剤の作用形式・作用機序の解析の上に有用な方法であると考える。

第五編　引用文献

1) W. G. Spector and D. A. Willoughby, "The Pharmacology of Inflammation", The English Universities Press Ltd., London, p. 1 (1968); W. G. Spector and D. A. Willoughby, "The Inflammatory Process", ed. by B. W. Zweifach, L. Grant and R. T. McCluskey, Academic Press, New York and London, p. 1 (1965); A. A. Miles, Ann. N. Y. Acad. Sci., *116*, 855(1964); J. J. R. Duthie, "Textbook of Rheumatic Diseases", ed. by W. S. C. Copeman, E. & S. Livingstone, Edinburgh and London, p. 259 (1970); 竹内　正，飯島宗一，渡辺五郎，"最新病理学"，文光堂，東京，p. 344 (1969); 山村雄一，"病理生化学"，岩波書店，東京，p. 499 (1971).

2) R. A. Turner, "Screening Methods in Pharmacology", Academic Press, New York and London, p. 152 (1965); 伊藤四十二，鶴藤　丞，リウマチ，*8*, 21 (1968).

3) R. Vinegar, J. Pharmacol. Exptl. Therap., *161*, 389 (1968); R. Vinegar, W. Schreiber and R. Hugo, J. Pharmacol. Exptl. Therap., *166*, 96 (1969).

4) P. Crunkhorn and C. R. Meacock, Brit. J. Pharmacol., *42*, 393 (1971); T. N. Bhalla and K. K. Tangri, J. Pharm. Pharmacol., *22*, 721 (1970); M. DiRosa, J. P. Giround and D. A. Willoughby, J. Pathol., *104*, 15 (1971).

5) C. Laden, R. Q. Blackwell and L. S. Fosdick, Am. J. Physiol., *195*, 712 (1958); S. Cygielman and J. M. Robson, J. Pharm. Pharmacol., *15*, 794 (1963); I. L. Bonta, N. Bhargava and C. J. de Vos, Experientia, *26*, 759 (1970); D. C. Atkinson and R. Hicks, Brit. J. Pharmacol., *41*, 480

(1971); B. V. Robinson and J. M. Robson, Brit. J. Pharmacol., *26*, 373 (1966); G. DiPasquale and R. J. Girerd, Am. J. Physiol., *201*, 1155 (1961).

論文の審査結果の要旨

小動物における実験的炎症病態モデルを使用して，急性炎症経過の各期相互関連性及び抗炎症剤の作用形式の相異を明らかにした。とくにこれによりステロイド性及び非ステロイド性抗炎症剤の作用形式のちがいをはっきりし得たので薬学博士にあたいする論文であると認める。