

短 報

各種 corticosteroids による PHA 芽球化
抑制の比較検討

島 田 寔
諏訪赤十字病院外科

COMPARATIVE STUDIES ON IMMUNOSUPPRESSIVE ACTIVITIES
OF REPRESENTATIVE CORTICOSTEROIDS *IN VITRO*

Makoto SHIMADA
Surgery Clinic, Suwa Red Cross Hospital, Suwa-city

SHIMADA, M. *Comparative studies on immunosuppressive activities of representative corticosteroids in vitro.* Shinshu Med. J., 28: 149-152, 1980

By using a method of the blastoid transformation of human lymphocytes induced by PHA *in vitro*, immunosuppressive activities of 7 corticosteroid preparations (hydrocortisone sodium succinate, hydrocortisone disodium phosphate, prednisolone hemisuccinate, methyl prednisolone acetate, dexamethasone sulfate-Na, dexamethasone phosphate and betamethasone disodium phosphate) were examined.

The results obtained were as follows ;

1. Among these 7 corticosteroid preparations, dexamethasone phosphate, betamethasone disodium phosphate, methyl prednisone acetate and prednisolone hemisuccinate showed a strong suppressive effect on blastogenesis.
2. The immunosuppressive activity of corticosteroids was not always parallel to the anti-inflammatory activity.

(Received for publication ; August 3, 1979)

Key words ; 副腎皮質ホルモン (corticosteroids)

免疫抑制 (immunosuppression)

リンパ球 PHA 反応 (blastogenesis of lymphocytes induced by phytohemagglutinin)

I 緒 言

Corticosteroids (以下 CS と略す)は thiopurines, alkylating agents 及び antilymphocyte sera と共に四大免疫抑制剤の一つである¹⁾。しかしながら、一般臨床で広く使用されている夫々の CS 剤の免疫抑制力を比較検討した報告は少ない。

著者は、代表的 7 種類の CS 剤が *in vitro* で、健康成人末梢リンパ球 (以下単にリンパ球と略す)の

phytohemagglutinin (PHA) による芽球化 (以下単に PHA 反応と略す)に、どのような抑制作用を及ぼすかについて比較検討した。

II 方 法

材料は、2名の健康成人 (A例: 32才男, B例: 35才女)の末梢リンパ球を用いた。末梢リンパ球の分離は、Lymphoprep (Nyegaard & Co. Oslo) により行った²⁾。

表1 各 CS による PHA 芽球化抑制

CS 剤	少量添加群				大量添加群			
	添加量 γ	SI (P) 抑制率 (%)			添加量 γ	SI (P) 抑制率 (%)		
		A 例	B 例	平均		A 例	B 例	平均
ソル・コーテフ	1	71.2	59.4	65.3	10	86.5	80.7	83.6
ハイドロコートン	1	63.2	32.1	47.7	10	75.0	63.3	69.2
プレドニン	0.5	68	72.2	70.1	5	83.2	73.6	78.4
メドロール	0.5	80.8	68.8	74.8	5	88.1	72.7	80.4
デカドロン	5	84.8	77.7	81.3	50	87.9	77.8	82.9
リンデロン	5	80.4	75.7	81.1	50	90.1	70.7	80.4
デキサ・ジェロソン	5	18.4	25.3	21.9	50	66.7	53.4	60.1

実験対象とした CS 剤は、以下の通りである。1, ソル・コーテフ: hydrocortisone sodium succinate (日本アップジョン)。2, 水溶性 ハイドロコートン: hydrocortisone disodium phosphate (日本メルク万有)。3, プレドニン: prednisolone hemisuccinate (塩野義製薬)。4, メドロール: methyl prednisolone acetate (日本アップジョン)。5, デキサ・ジェロソン: dexamethasone sulfate-Na (日本シェーリング)。6, デカドロン: dexamethasone phosphate (日本メルク万有)。7, リンデロン: beta-methasone disodium phosphate (塩野義製薬)。

各 CS 剤の著者の実験系への添加量は、以下の如く定めた。すなわち、各 CS 剤の臨床でのプロキロ普通使用量を基準として、著者の実験系への添加量を概算し、予備実験より極端な(低いか又は高い)リンパ球 PHA 反応抑制を起こさない添加量を定めた。それ等は、表1に示すように、1, ハイドロコートン系 CS 剤では1 γ 。2, プレドニン系では0.5 γ 。3, 合成デキサ及びベーターメサゾン系では5 γ である。これらの添加量を少量添加群とし、dose response の一端をうかがうべく、その10倍量の大量添加群を各 CS 剤の夫々について作り、同一リンパ球を用い同時に PHA 反応抑制を比較検討した。

尚、夫々の CS 剤は、PHA と同時にリンパ球培養系に添加された。

リンパ球の調整、培養及び芽球化の定量については、培養液³⁴⁾は heat inactivated 仔牛血清(阪大微研) 22%加 TCM-199 medium (阪大微研) 3ml 中に、上記にて分離した、ヒト・リンパ球を最終濃度 1×10^6 コ/3ml になるように調整し、1, 生食0.05ml 添加の対照群。2, PHA-p (Difco) 30 γ /0.05ml 生食添加の

P群。3, (PHA-P30 γ +CS)/0.05ml 生食添加の(P+CS)群の3群を作り、これら3群を37°Cで2日間培養したのち、³H-thymidine (³H-TdR) 1 μ ci/0.1ml 生食を各培養試験管に加え、更に24時間培養し(合計3日間)、つづいて細胞消化法により処理し⁵⁾、³Hに合わせた liquid scintillation counter で放射活性(cpm)を測定した。各群は、triplicate に用意した。

実験のシェーマ: 図1に示すように、PHA 反応に更に PHA と同時に各 CS 剤を夫々添加することにより、PHA のみの添加時の stimulation index SI (P) 値を、添加 CS 剤が、どの程度抑制 (SI(P+CS) 値)したかを、SI (P) 値抑制率として、下記計算式により算出して比較検討した。

$$\text{SI} = \frac{\text{stimulation}}{\text{index}} = \frac{\text{PHA 加リンパ球培養の CPM}}{\text{対照(リンパ球のみ培養) CPM}}$$

$$\text{SI(P) 値抑制率} = \frac{\text{SI(P)} - \text{SI(P+CS)}}{\text{SI(P)}} \times 100$$

III 実験成績及び考按

CS の作用機序については、CS は標的細胞にはいっただと、特異的なレセプターと結合し、CS・レセプター複合体は活性化されて核内に移行し、特異的な遺伝子活性化の機構を通じてその効果を発現すると考えられている⁶⁾。そしてリンパ組織に対しては異化的に働くと言われる⁶⁾。

著者は、臨床的にポピュラーに使用されている7種類の CS 剤のヒト免疫機構に及ぼす抑制作用の一つの指標として、これら CS 剤の *in vitro* でのヒト・リンパ球 PHA 反応に及ぼす抑制作用で比較検討した。

各種 Corticosteroids による PHA 芽球化抑制の比較検討

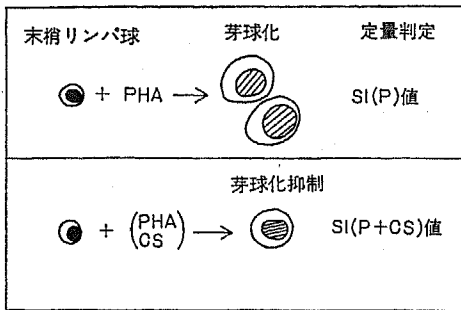


図1 実験シエーマ

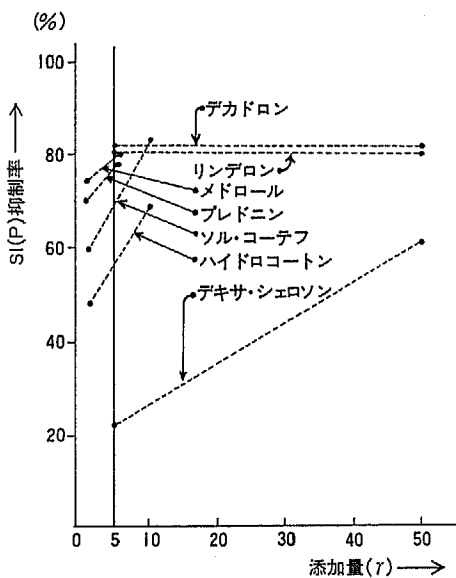


図2 CS 剤 PHA 芽球化抑制 dose response curve

すなわち、同一 CS 剤について 2 種類の濃度の添加群を作り、不完全ではあるが、一応、抑制率に関する dose response curve を作って比較検討を加えた。結果は表 1 及び図 2 に示す如くである。

本論文では短報的な意味で、要約的にのべたい。まず、図 2 について、すべての CS 剤に関連する 5γ 添加について、SI(P) 抑制率を比較検討すると、デカドロン、リンデロン、メドロール及びプレドニンの 4 種の CS 剤が最も PHA 反応抑制は強力で抑制率は 80% 前後であった。ついでソル・コーテフは抑制率は 70%、ハイドロコートンの抑制率は 50% 台と弱体化し、デキサ・シエロソンはかけはなれて PHA 反応抑制は弱く、抑制率は 20% 程度であった。著者の実験観察では、

同じ構造をもつ CS 剤群の中でも、その製剤がどのような型の塩類であるかによって、PHA 反応抑制力にかなりの差のあることが認められた。

この現象の説明の一部として、増岡ら⁷⁾のデカドロン (dexamethasone phosphate) は、体液や肝ホモジネートの中で速やかに遊離 dexamethasone になるのに対し、デキサシエロソン (dexamethasone sulfate) の場合には、遊離型の dexamethasone の生成が起こりにくいとの報告が役立つかも知れない。

デキサ及びベーター・メサゾン系 CS 剤は、消炎力では、prednisolone 系 CS 剤の数倍の activity を持つといわれている合成の強力消炎 CS 剤であるが、PHA 反応抑制力では prednisolone 系 CS 剤と同程度であった。従って、著者の実験系における観察からは、CS 剤の anti-inflammatory activity と immunosuppressive activity とは必ずしも平行しないと考えられた。

IV 結 論

著者の実験系において、以下の結論を得た。

1. 7 種類の CS 剤の中では、デカドロン、リンデロン、メドロール及びプレドニンの 4 種の CS 剤が同程度にリンパ球 PHA 反応抑制が強力であり、ついでソル・コーテフ、ハイドロコートンは中等度の抑制を示し、デキサ・シエロソンは、かけはなれて PHA 反応抑制は弱い。
2. 同じ構造を持つ CS 剤でも、それが何の塩類かによって、PHA 反応抑制力には差がある。
3. CS 剤の anti-inflammatory activity と immunosuppressive activity とは必ずしも平行しないようである。

文 献

- 1) Bach, J. F. ; The mode of action of immunosuppressive agents, pp.1-20, American Elsevier Pub. Co, N. Y., 1975
- 2) 辻 公美 : 比重遠心法によるリンパ球の分離。免疫実験操作法, 日本免疫学会編, pp. 265-268, 日本免疫学会方法小委員会, 金沢, 1972
- 3) 森 陽一 : ヒト・リンパ球の培養と若返り現象。免疫実験操作法, 日本免疫学会編, pp. 309-313, 日本免疫学会方法小委員会, 金沢, 1971
- 4) 金谷 隆 : 癌患者における細胞性免疫能に関する研究。札幌医誌, 43 : 48-60, 1974

- 5) 橋本嘉幸, 北川恒代: ^3H -ウリジン法による試験管内細胞性免疫反応の定量化. 免疫実験操作法, 日本免疫学会編, pp. 437-443, 日本免疫学会方法小委員会, 金沢, 1972
- 6) 名取靖郎, 岡 達三: ステロイドホルモンの作用機序. 日臨, 37: 1206-1212, 1979
- 7) 増岡通夫, 近藤責雄, 堀竜彦, 松沢 允, 中山 亮, 島本暉朗: Dexamethasone 21-phosphate および 21-sulfate の cotton-pellet 法による抗炎症作用ならびに酵素による加水分解 (in vitro) の比較検討. 薬理と治療, 2: 1611-1617, 1974
(54. 8. 3 受稿)
-