

【原著・基礎】

Erythromycin と去痰薬のマウスにおける内因性 glucocorticoid レベルにおよぼす影響

堀 誠治・佐藤 淳子¹⁾・川村 将弘

東京慈恵会医科大学薬理学第1*

²⁾現 国立医薬品食品衛生研究所

(平成 13 年 7 月 4 日受付・平成 13 年 7 月 26 日受理)

Erythromycin (EM) が、慢性気道炎症性疾患の症状改善に有効であることはよく知られている。われわれは、EM が内因性 glucocorticoid (GC) level を上昇させることを明らかとし、この薬物に関連する抗炎症作用の機序のひとつとなる可能性を示してきた。呼吸器炎症性疾患治療時に、EM と去痰薬の併用は、しばしば行われている。そこで、両薬併用時の血清 GC level におよぼす影響をマウスを用いて検討した。去痰薬である carbocysteine (CMC) は、単独で、血清 GC level 上昇作用を有したが、ambroxol (AM) は血清 GC level に変化を与えなかった。一方、EM は、投与量依存的に上昇させた。CMC の同時投与で、EM の血清 GC level 上昇作用は増大され、その効果は相乗的であった。AM では、このような増大作用は認められなかった。これらの成績より、CMC 併用により、EM の内因性 GC level 上昇作用が増大され、EM の抗炎症作用が増強される可能性が示唆された。

Key words: erythromycin, carbocysteine, ambroxol, glucocorticoid

Erythromycin (EM) の少量投与がびまん性汎細気管支炎の臨床症状改善に有効であるとの報告¹⁾がなされてより、マクロライド (ML) 薬の有する抗炎症作用をはじめとして抗菌薬の抗菌作用以外の作用が注目されている。特に、EM をはじめとする 14 員環 ML 薬では、気道炎症性疾患の症状改善に有効であることから、その抗炎症作用を有する可能性が考えられ、その作用機序が検討されている^{2,3)}。ML 薬の抗炎症作用は、主として免疫学・宿主生体防御の面から検討されている。特に、これらの薬物が、炎症性サイトカインの産生を抑制するとの報告は認められている²⁻⁵⁾。それらの主なものは、局所の炎症反応に対する影響を検討したものである。ML 薬の抗炎症作用を、全身作用の面から検討したものは、ほとんど見られなかった。われわれは、EM をはじめとする 14 員環 ML 薬が内因性 glucocorticoid (GC) level を上昇させることを示し、これらの ML 薬の有する抗炎症作用の機序のひとつとなる可能性を示してきた⁶⁻⁸⁾。

一方、去痰薬として汎用されている carbocysteine (carboxymethylcysteine, CMC) に、bleomycin 誘発肺臓炎を抑制するとの報告⁹⁾があり、CMC が抗炎症作用を有する可能性が示されている。われわれは、CMC が内因性 GC level を上昇させることを見出し、抗炎症作用のひとつの機序となる可能性を示した¹⁰⁾。気道感染症など気道の炎症性疾患治療において、ML 薬と去痰薬の併用は、しばしば行われている。そこで、ML 薬と去痰薬との併用により、内因性 GC level の上昇作用が増強されるか否か、すなわち、その結果として抗炎症作用が増強される可能性があるか否かに興味を持たれる。そこで、われわれは、ML 薬として EM、去痰薬

として CMC および ambroxol (AM) を用い、ML 薬および去痰薬併用時の血清 GC level におよぼす影響をマウスにおいて検討した。

I. 材料および方法

1. 材料

マウス (ddY 系, ♂, 5 週齢) は、三協ラボサービス (東京) より購入し、5~7 日間飼育、環境に順化させた。飼育環境は、12 時間ごとの明暗とし、餌・水は自由摂取とした。なお、実験は、10 時から 16 時の間に終了するようにした。

CMC は、杏林製薬株式会社より供与された。EM は Nacalai Tesque (京都) より、AM, dexamethasone (DEX) は、Sigma Chemical Co. (MO.USA.) より購入した。その他の試薬は、特級の試薬を用いた。

2. 方法

1) 薬物溶液の調製

CMC は生理食塩水に、EM および DEX は 10% ethanol/生理食塩水に、また、AM は 1% DMSO/生理的食塩水に溶解し、マウス腹腔内に投与した。投与容量は、それぞれ 10 mL/kg とした。したがって、2 薬を同時投与したので、全投与容量は、20 mL/kg となった。薬物単独の影響を検討する際には、生理食塩水を 10 mL/kg として投与し、最終的に全投与容量が 20 mL/kg となるようにした。

2) 薬物投与と血清中 GC level の測定

CMC および AM と生理食塩水をマウス腹腔内に投与し、1 時間後に断頭・採血し、血清を分離した。EM と

CMC または AM をマウス腹腔内に同時投与、1 時間後に断頭・採血し、血清を分離した。血清中 GC level は、corticosterone をスタンダードとした硫酸蛍光法にて測定した¹¹⁾。今回用いた薬物とその投与量を、Table 1 に示す。

さらに、DEX (10 mg/kg) 腹腔内投与 1 時間後に、EM および CMC を同時にマウス腹腔内に投与した。投与後 1 時間にて、断頭・採血し、血清中 GC level を測定した¹¹⁾。

なお、本研究は、東京慈恵会医科大学動物実験指針にいたがい行われた。

II. 結 果

1. CMC および AM の血清中 GC level におよぼす影響

CMC および AM の血清中 GC level におよぼす影響を検討した。マウスに、CMC および AM と生理食塩水を同時に腹腔内投与し、全投与量を 20 mL/kg とするよう調整した。

CMC (300 mg/kg) 投与では、血清 GC level の上昇を認めたが、AM では変化は認められなかった (Fig. 1)。

2. EM の血清中 GC level におよぼす影響

EM の血清 GC level におよぼす影響を検討した。EM (100 mg/kg) の腹腔内投与 (生理食塩水を同時に投与し、全投与量を 20 mL/kg に調整) により、マウスの血清中 GC level は上昇した。しかし、EM 10 mg/kg の

投与では、血清中 GC level に変化は認められなかった (Figs. 2, 3)。

3. EM と CMC または AM 同時投与の血清中 GC level におよぼす影響

CMC と EM の同時腹腔内投与後、1 時間で血清中 GC level を測定した。CMC の同時投与により、EM の GC level 上昇作用に対する増強効果が認められた。特に、CMC 100 mg/kg 投与群では、CMC 単独では血清中 GC level に変化が見られなかったにもかかわらず、EM と CMC を同時に投与することにより、EM 単独投与に比べ血清中 GC level は有意に上昇していた (Fig. 2)。

一方、EM と AM を同時腹腔内投与では、AM 10 mg/kg で、EM 100 mg/kg による GC level 上昇作用を軽度増加させる傾向を認めたものの、その他の投与量では、AM は EM による GC level 上昇作用に影響を与えなかった (Fig. 3)。

4. EM・CMC による血清 GC level 上昇作用に対する DEX の影響

EM, CMC 同時投与による血清中 GC level 上昇に対する DEX の影響を検討した。DEX (10 mg/kg) 前処理により、EM・CMC 同時投与による GC level 上昇は抑制された。また、DEX 投与群では、vehicle 投与群に比べ、EM・CMC 投与群における血清中 GC level のごく軽度の上昇が認められた (Fig. 4)。

II. 考 察

近年、ML 薬、特に 14 員環 ML 薬が、抗菌作用以外

Table 1. Doses used in this study and clinical daily dosages

	Dose in this study (i. p. administration)	Clinical daily dosages* (oral administration)	
		adult	child
Erythromycin	0, 10, 100 mg/kg	800–1,200 mg (600–1,500 mg for injection)	25–50 mg/kg
Carbocisteine	0, 50, 100, 300 mg/kg	1,500 mg	30 mg/kg
Ambroxol	0, 1, 3, 10 mg/kg	45 mg	0.9 mg/kg

*from reference 13

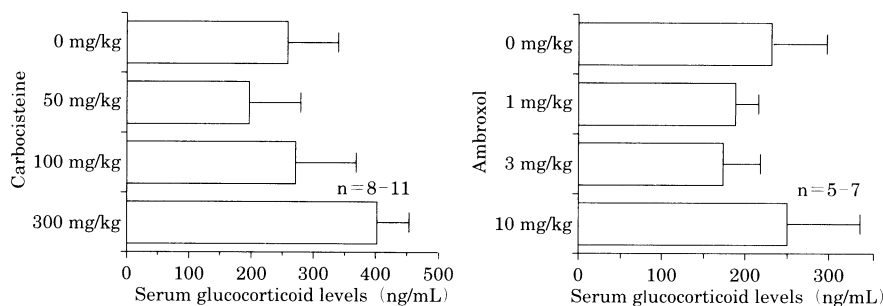
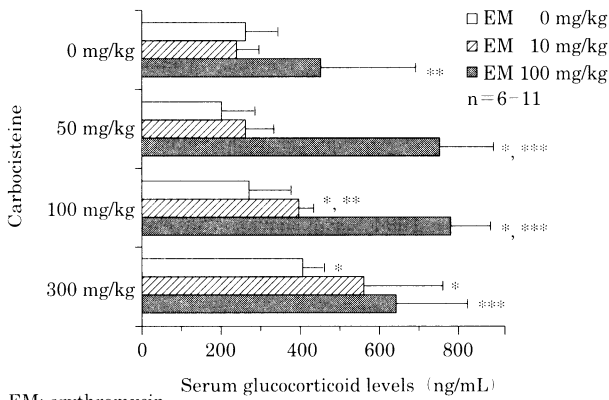


Fig. 1. Effect of carbocisteine and ambroxol on serum glucocorticoid levels in mice.

Each column represents mean±SD for 5–11 mice.

*p<0.01 compared to control (0 mg/kg).



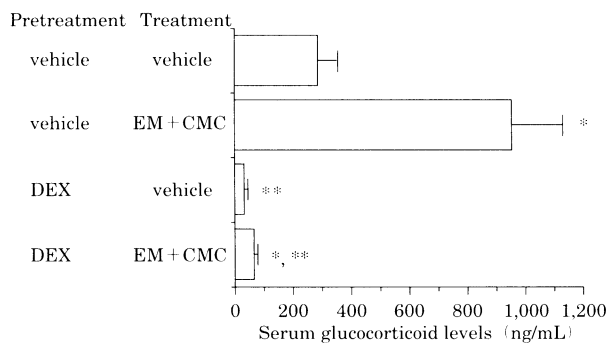
EM: erythromycin

Fig. 2. Effect of concurrent administration of carbocisteine on erythromycin-induced glucocorticoidogenesis in mice.

* $p < 0.01$ compared to the mice without carbocisteine with same dose of erythromycin

** $p < 0.05$ compared to the mice without erythromycin with same dose of carbocisteine

*** $p < 0.01$ compared to the mice without erythromycin with same dose of carbocisteine.



DEX: dexamethasone, EM: erythromycin, CMC: carbocisteine

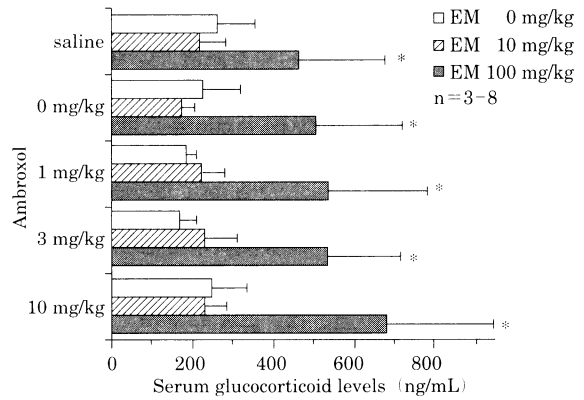
Fig. 4. Effect of dexamethasone on erythromycin and carbocisteine-induced glucocorticoidogenesis in mice.

* $p < 0.01$ compared to the mice treated with vehicle with same pretreatment

** $p < 0.01$ compared to the mice pretreated with vehicle with same treatment

の宿主に対する作用を有することが報告され注目されている^{2,3}。そのなかでも、14員環ML薬が、びまん性汎細気管支炎をはじめとする気道炎症性疾患の症状改善に有効であるとの報告¹¹がなされ、その作用機序の解明が多方面からなされている。特に、ML薬の抗炎症作用を有する可能性が注目されている^{2,3}。そのなかで、われわれは、EM⁶、roxithromycin⁷、clarithromycin⁸がマウスの内因性GC levelを上昇させることを明らかとし、このGC levelの上昇が、これらのML薬の有する抗炎症作用の作用機序のひとつとなる可能性を示してきた。

一方、去痰薬であるCMCも抗炎症作用を有する可能性が示されている⁹。われわれは、CMCが、内因性GC levelを上昇させることを示し、CMCの有する抗炎症



EM: erythromycin

Fig. 3. Effect of concurrent administration of ambroxol on erythromycin-induced glucocorticoidogenesis in mice.

* $p < 0.05$ compared to the mice without erythromycin

作用の機序のひとつとなりうることを示唆してきた¹⁰。

慢性気道感染症をはじめとする気道炎症性疾患の治療に際しては、EMなどのML薬と去痰薬の併用はしばしば行われている。ML薬、去痰薬の併用時と、それぞれを単独に投与した場合とで、抗炎症作用に差があるかが注目される。そこで、EMの内因性GC level上昇作用におよぼすCMCとAMの影響を検討した。

EMは、単独投与で、マウスの血清GC levelを上昇させた。また、高投与量のCMCは、単独で、血清GC levelを上昇させた。これらの成績は、われわれがさきに報告したものと一致していた^{6,10}。CMCの併用により、EMの血清GC level上昇作用の増強が認められた。特に、CMC 50および100 mg/kg (臨床1日投与量のほぼ1.5倍および3倍に相当、Table 1)を投与した群では、CMC単独では血清GC level上昇作用を認めていないにもかかわらず、併用によりEMのGC level上昇作用は増強された (Fig. 2)。この成績は、CMCの併用により、EMの有する内因性GC level上昇作用が増強され、抗炎症作用がより強く示される可能性を示している。

一方、AMでは、投与量10 mg/kg (1日投与量のほぼ10倍に相当、Table 1)まで、単独投与では血清GC levelに影響を与えなかった。さらに、EMと併用した際にも、EMの血清GC level上昇作用に影響を与えなかった (Fig. 3)。この成績から、AMは、EMの有する抗炎症作用には影響を与えない可能性が示された。

さらに、CMCおよびEM併用による血清GC level上昇作用が、副腎皮質細胞を直接刺激しているものか、または、視床下部—下垂体—副腎皮質系を活性化し血清GC levelを上昇させているのかが問題となる。そこで、マウスをDEX (10 mg/kg)で前処理し、これらのCMCとEMを同時投与した。DEXは、視床下部—下垂体—副腎皮質系にnegative feedbackをかけ、副腎皮質細胞

における GC 産生を抑制すると考えられる¹²。DEX 前処理により、EM・CMC による血清 GC level 上昇作用は抑制された。しかし、DEX 処理マウスにおいて、vehicle 投与群に比べ、EM・CMC 投与群で、ごく軽微ながら血清 GC level の上昇が認められた。これらのことから、EM・CMC 併用による血清 GC level 上昇作用は、視床下部—下垂体—副腎皮質系を活性化することによる可能性が示された。また、副腎皮質細胞に直接作用したとしても、その強さは、ごくわずかであることが示唆された (Fig. 4)。

以上の成績から、去痰薬である CMC 併用時には、EM の有する内因性 GC level に対する上昇作用が増強され、抗炎症作用がより強く示される可能性が示唆された。一方、AM は、EM の有する内因性 GC level 上昇作用を変化させないことが示唆された。

これらのことから、ML 薬と CMC を併用することにより、ML 薬の有する抗炎症作用をより強く発揮させることができる可能性が示唆された。

文 献

- 1) 王藤翔二、植竹健司、萩原弘一、他: びまん性汎細気管支炎にたいするエリスロマイシン少量長期投与の臨床効果—4年間の治療成績。日胸疾会誌 25: 632~642, 1987
- 2) 王藤翔二 編: 炎症・免疫とマクロライド。医薬ジャーナル、大阪、1996
- 3) マクロライドの新作用研究 2000。日本抗生物質学術協議会、東京、2001
- 4) Oishi K, Sonoda F, Kobayashi S, et al.: Role of interleukin-8 (IL-8) and an inhibitory effect of

erythromycin on IL-8 release in the airways of patients with chronic airway diseases. Infect Immun 62: 4145~4152, 1994

- 5) 秋吉裕也、本田順一、中原 伸、他: エリスロマイシンのヒト末梢血におけるサイトカイン mRNA 発現に対する影響—びまん性汎細気管支炎に対するエリスロマイシンの作用機序に関する一考察。感染症誌 68: 209~215, 1994
- 6) 堀 誠治、佐藤淳子、川村将弘: 視床下部—下垂体—副腎系におよぼす erythromycin の影響。日化療会誌 44: 82~84, 1996
- 7) 佐藤淳子、堀 誠治、川村将弘: Roxithromycin の血清中 glucocorticoid に及ぼす影響。日化療会誌 45: 165~167, 1997
- 8) Hori S, Sato J, Kawamura M: Effect of clarithromycin on endogenous glucocorticoid levels in mice. J Infect Chemother 3: 198~201, 1997
- 9) 平田佳宏、大橋光雄: マウスにおけるプレオマイシン誘発肺障害に対する S-カルボキシメチルシステイン (S-CMC) の影響。基礎と臨床 29: 3661~3667, 1995
- 10) 堀 誠治、佐藤淳子、中澤 靖、他: 去痰薬の内因性グルココルチコイドレベルに及ぼす影響—抗炎症作用の可能性の検討—。臨床薬理 30: 403~404, 1999
- 11) Slavinski E A, Jull J W, Auersperg N: Steroidogenic pathway and trophic response to adrenocorticotropin of cultured adrenocortical cells in different states of differentiation. J Endocrinol 69: 385~394, 1976
- 12) 清水直容: 副腎皮質ホルモンとその作用。内科学 (第 4 版)。(上田英雄、武内重五郎、阿部 裕、他 編)、p.1091~1094, 朝倉書店、東京、1989
- 13) 水島 裕: 今日の治療薬—解説と便覧 2000。p.636~641, 南江堂、東京、2000

Effect of carbocisteine and ambroxol on erythromycin-induced glucocorticoidogenesis in mice

Seiji Hori, Junko Sato and Masahiro Kawamura

Department of Pharmacology (I), Jikei University School of Medicine,
3-25-8 Nishi-Shinbashi, Minato-ku, Tokyo 105-8461, Japan
present address: National Institute of Health Sciences

Erythromycin has been reported to have a potent anti-inflammatory activity. We have reported that erythromycin increased the endogenous glucocorticoid levels in mice, and suggested that the agent has an anti-inflammatory activity. Since carbocisteine, an expectorant, was reported to protect against bleomycin-induced pneumonitis, we studied the effect of carbocisteine, as well as ambroxol, on erythromycin-induced glucocorticoidogenesis in mice. Intraperitoneal administration of erythromycin (100 mg/kg) and carbocisteine (300 mg/kg) increased serum glucocorticoid levels, whereas ambroxol (up to 10 mg/kg) did not affect the levels. Concurrent administration of carbocisteine (50, 100 mg/kg) significantly enhanced the erythromycin-induced increase in serum glucocorticoid levels. On the other hand, concurrent administration of ambroxol did not increase the erythromycin-induced glucocorticoidogenesis. These results suggest that concurrent administration of carbocisteine, not ambroxol, enhances the anti-inflammatory activity of erythromycin through the increase of erythromycin-induced glucocorticoidogenesis.