

カフェインによるアレルギー性鼻炎の抑制効果

Inhibitory effects of caffeine on allergic rhinitis symptoms in mice

辻本 まどか¹, 佐伯 綾希子¹, 鈴木 真奈美¹, 白神 俊幸¹, 杉本 幸雄², 林 泰資¹

Madoka Tsujimoto¹, Akiko Saiki¹, Manami Suzuki¹, Toshiyuki Shiraga¹,
Yukio Sugimoto², Yasushi Hayashi¹

¹ ノートルダム清心女子大学大学院・人間生活学研究科・食品栄養学専攻

² 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

¹ Graduate School of Human Life Sciences, Department of Foods and Human Nutrition,
Notre Dame Seishin University

² Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

Summary

We examined the effects of caffeine treatment on ovalbumin- and histamine-induced rhinitis mouse models and on corticosterone and catecholamine levels in mouse plasma. Treatment with caffeine decreased sneezing and nasal rubbing in both models, but direct nasal administration had no effect. Plasma levels of corticosterone and catecholamine, which have known anti-allergy effects, were increased by caffeine treatment. The increases in corticosterone and catecholamine may be associated with the suppression of rhinitis symptoms.

はじめに

コーヒーや緑茶の主成分であるカフェインは抗アレルギー作用を有し (1), この作用はマスト細胞からの炎症性メディエーター遊離抑制に基づくことが報告されている (2)。最近我々は、コーヒー成分の薬理作用を研究する中で、カフェインがアレルギー性鼻炎モデルマウスの症状を抑制することを観察した (3)。カフェインは、マスト細胞への作用のほかに幾つかの薬理作用を有することから、本研究ではカフェインの鼻炎抑制作用について、マスト細胞の脱顆粒抑制以外の新たな作用機序の探索を試みた。このために、卵白アルブミン (ovalbumin: OVA) によって鼻炎モデルマウスを作製し、カフェインの鼻炎抑制作用について検討するとともに、ヒスタミン点鼻による鼻炎モデルマウスを作製し、中枢興奮薬としてのカフェインの作用に着目して抗鼻炎作用について検討した。

方法

実験動物

日本クレア (株) より、6 週齢の BALB/c 雌性マウスと 7 週齢の Wistar 系雄性ラットを購入し、環境への馴化のために、実験前に 1 週間以上飼育した。動物飼育室の温度は 24±1°C とし、12 時間周期で照明を点灯 (7:00-19:00) あるいは消灯した。餌および水は自由摂取とした。動物の取り扱いについては、「ノートルダ

ム清心女子大学動物実験指針」に則って実施した。

鼻炎モデルの作製

OVA によって感作した鼻炎モデル (OVA モデル) とヒスタミンの点鼻によって作製した鼻炎モデル (ヒスタミンモデル) を実験に使用した。OVA モデルの場合、マウス購入から 7 日後を Day 0 とし、200 µl の生理食塩水に溶解した OVA (Grade V, Sigma-Aldrich) 1 µg と水酸化アルミニウムゲル (ALUM, LSL) 100 µg を Day 0, Day 5, Day 14 に腹腔内投与し、全身感作を行った。その後、Day 21 より OVA 溶液 (100 mg/ml 生理食塩水) を両鼻腔に 2 µl ずつ点鼻投与し、Day 40 まで連日、局所感作を行った。ヒスタミンモデルの場合、無処置のマウスにヒスタミン二塩酸塩 (特級, ナカライテスク) を生理食塩水に溶解したヒスタミン溶液 (0.3-3 µmol/µl 生理食塩水) を、両鼻腔に 2 µl ずつ点鼻投与して鼻炎症状を誘発した。

鼻炎症状の評価

マウスを観察用ケージ (21×31×13 cm³) に 10 分間放置して馴化した。OVA あるいはヒスタミン溶液を 2 µl ずつ両鼻腔に点鼻投与後、観察用ケージに戻し、くしゃみと鼻掻き回数を 2 日に 1 回、10 分間計測した。

カフェイン投与

OVA モデルあるいは無処置マウスに生理食塩水に溶解したカフェイン (10-100 mg/kg) を腹腔内投与した。60分経過後、OVA あるいはヒスタミン溶液を点鼻投与した。一部のマウスには、ヒスタミン溶液を点鼻する10分前にカフェイン溶液を直接点鼻投与した。コントロール群には、生理食塩水を腹腔内あるいは点鼻投与した。

卵白アルブミン特異的 IgE 抗体価の測定

受動皮膚アナフィラキシー反応 (passive cutaneous anaphylaxis reaction : PCA 反応) によって、OVA 特異的 IgE 抗体価を測定した。OVA モデル完成後 (Day 40) と無処置のマウスを断頭屠殺し、ヘパリンナトリウムを塗布したペトリ皿に採血した。血液をマイクロチューブに移し、遠心分離 (8000 g, 5分) を行って感作血漿を得た。血漿は生理食塩水を用い公比 2 で段階希釈後、それぞれの希釈液を除毛した Wistar 系雄性ラットの背部に 0.1 ml ずつ皮内投与して受動感作に使用した。感作血漿の皮内投与から 48 時間後に、受動感作したラットの尾静脈内に、生理食塩水 1 ml あたり 2.5 mg のエバンスブルーと 10 mg の OVA を含む溶液を 0.2 ml/100 g 体重の割合で投与した。30分後、ラットに高濃度のペントバルビタールを投与し、麻酔死させた。その後、背部皮膚を剥ぎ、抗体投与部位に生じたエバンスブルーの斑点の直径を測定した。判定は、直径 5 mm 以上の斑点を陽性とした。

アドレナリン、ノルアドレナリン、コルチコステロン濃度の測定

無処置のマウスに生理食塩水に溶解したカフェインを腹腔内投与し、1時間後、血漿中のアドレナリン、ノルアドレナリンは、電気化学検出器付高速液体クロマトグラフィー (HTEC-500, エイコム) を用いて、アルミナ吸着法 (4) により測定した。また、血漿中のコルチコステロン濃度は EIA キット (Cayman Chemical) を用いて測定した。

統計方法

データは、平均値±標準誤差で表示し、統計処理は、一元配置分散分析と Dunnett's test による多重比較を行った。PCA 反応に関しては、Mann-Whitney's U test を用いた。有意差の基準は $p<0.05$ とした。

結果

OVA モデルにおいて、局所感作の繰り返しのにより、くしゃみと鼻搔き回数は増加し、鼻炎症状の悪化が観察された。Day 40 における OVA 特異的 IgE 抗体価を図 1 に示す。コントロール群では抗体価は陰性であったが、OVA モデルの完成により顕著な増強が観察された。

表 1 に OVA モデルに対するカフェイン投与の効果を示す。10-30 mg/kg のカフェイン投与により、くしゃみと鼻搔き回数は減少した。

表 2 にヒスタミンモデルに対するカフェインの効果を示す。30-100 mg/kg のカフェイン投与により、くしゃみと鼻搔き回数は減少した。

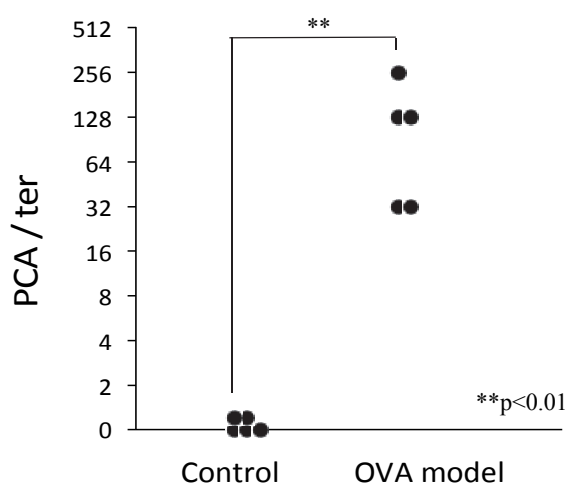


図 1 OVA 特異的 IgE 抗体価の変化 (n=5)

表 1 OVA モデルに対するカフェインの効果

	Sneezing	Nasal rubbing
Control	25.4±3.6	23.1±3.3
Caffeine 10	12.2±5.7 *	12.8±3.6 *
Caffeine 30	6.1±1.2 **	8.0±1.0 **

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ (n=6-9)

表 2 ヒスタミンモデルに対する
カフェインの効果

	Sneezing	Nasal rubbing
Control	22.6±3.0	15.8±2.1
Caffeine 30	12.9±2.7 *	10.9±1.2
Caffeine 100	7.5±1.4 **	10.8±1.2 *

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ (n=8-11)

表3 カフェイン投与後の血漿中アドレナリン、ノルアドレナリン、コルチコステロン濃度

	Ad	Norad	Cort
Control	1.2±0.3	3.4±0.4	89.9±10.9
Caffeine 30	3.9±0.6	5.7±0.7	199.7±4.4 **
Caffeine 100	7.8±1.6 **	7.3±1.4 **	443.1±13.4 **

Ad=adrenaline, Nord=noradrenaline, Cort= corticosterone
**p<0.01 (n=7-8)

しかし、カフェインを直接点鼻した場合は、抑制効果を示さなかった。

表3に血漿中のアドレナリン、ノルアドレナリン、コルチコステロン濃度に対するカフェイン投与の影響を示す。30-100 mg/kgのカフェイン投与により、血漿中のホルモンレベルは顕著に増加した。

考 察

OVA モデルにおいて、連日の局所感作により、くしゃみと鼻掻き回数の増加とともに、OVA 特異的 IgE 抗体価の上昇がみられ、アレルギー性鼻炎モデルの完成が確認できた。OVA モデルに投与した 10-30 mg/kg のカフェインは、中枢興奮作用を発揮するに十分な量である (5)。カフェインは、中枢神経系において抑制性伝達物質であるアデノシンの受容体を阻害する。アデノシン受容体は A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃ 受容体が存在するが、カフェインの覚醒・興奮作用は A_{2A} 受容体を介することが知られている (6)。この受容体阻害作用により、ストレス応答の主経路である視床下部-交感神経-副腎髄質系、および視床下部-下垂体-副腎皮質系が活性化され、血漿中のアドレナリン、ノルアドレナリン、コルチコステロンの濃度が上昇したと思われる。コルチコステロンなどの副腎皮質ホルモンは、アラキドン酸カスケードの抑制や炎症性サイトカインの産生抑制など、炎症反応の様々な段階を抑制し、抗炎症作用を発揮することが知られており (7)、その製剤はアレルギー性疾患の治療に汎用されている。また、副腎髄質ホルモンであるアドレナリンやノルアドレナリンも、非ステロイド性抗炎症薬の作用に関わることが知られている (8)。したがって、カフェインの鼻炎抑制作用には、中枢興奮作用を介した血漿中の副腎皮質および副腎髄質ホルモンの関与が示唆される。

Shin ら (2) は、カフェインの鼻炎抑制作用が、マスト細胞からのヒスタミンを含む炎症性メディエーターの遊離抑制に起因することを示している。我々は、これ以外の機序を探索す

るために、マウスにヒスタミンを直接点鼻して鼻炎を誘発し、カフェインの効果について検討した。結果に示すように、カフェイン投与はヒスタミン点鼻によって誘発された鼻炎症状を顕著に抑制した。また、カフェインの直接点鼻は無効であった。これらの結果は、OVA モデルにおけるカフェインの効果は、炎症性メディエーターの遊離抑制作用とともに、遊離後のプロセスにも関与することを示している。

以上の結果より、ヒスタミンモデルにおけるカフェインの鼻炎抑制作用は、鼻粘膜への直接作用ではなく、中枢興奮作用に基づく副腎皮質および副腎髄質ホルモンの濃度上昇が関与していると思われる。特に、アドレナリン α₁ 受容体作動薬は抗鼻炎薬の成分として使われていることから、血漿中のアドレナリンとノルアドレナリンが、α₁ 受容体を介した血管収縮作用などにより、鼻炎症状緩和に関与した可能性が考えられる。

おわりに

カフェインは、コーヒー、緑茶などの主成分である。ヒトによる研究において、2~3 杯分のコーヒーに相当するカフェイン摂取によって、血漿中のアドレナリン (9) やコルチゾール (10) が増加することが報告されている。これらのホルモン増加が、抗アレルギー作用を示す可能性が考えられる。

文 献

- 1) Shapiro P (1982) Caffeine for allergic rhinitis. *Lancet* 1:793.
- 2) Shin HY, Lee CS, Chae HJ, Kim HR, Baek SH, An NH, Kim MH (2000) Inhibitory effect of anaphylactic shock by caffeine in rats. *Int J Immunopharmacol* 22:411-418.
- 3) 佐伯 綾希子, 鈴木 奈美, 曾我部 咲, 白神 俊幸, 杉本 幸雄, 林 泰資 (2015) コーヒー成分によるアレルギー性鼻炎の緩和について. *岡山実験動物研究会報* 31: 80-81.
- 4) Kurata K, Nagasawa M, Tomonaga S, Aoki M, Akiduki S, Morishita K, Denbow DM, Furuse M (2012) Orally administered L-ornithine reduces restraint stress-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in mice. *Neurosci Lett* 506:287-291
- 5) Patz MD, Day HE, Burow A, Campeau S (2006) Modulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis by caffeine.

- Psychoneuroendocrinology 31:493-500.
- 6) Huang ZL, Qu WM, Eguchi N, Chen JF, Schwarzschild MA, Fredholm BB, Urade Y, Hayaishi O (2005) Adenosine A_{2A}, but not A₁, receptors mediate the arousal effect of caffeine. *Nat Neurosci* 8: 858-859.
 - 7) Coutinho AE, Chapman KE (2011) The anti-inflammatory and immune-suppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol Cell Endocrinol* 335: 2-13.
 - 8) Suleyman H, Halici Z, Cadirci E, Hacimuftuoglu A, Bilen H (2008) Indirect role of β_2 -adrenergic receptors in the mechanism of anti-inflammatory action of NSAIDS. *J Physiol Pharmacol* 59:661-72
 - 9) Renda G, Zimarino M, Antonucci I, Tatasciore A, Ruggieri B, Bucciarelli T, Prontera T, Stuppia L, De Caterina R (2012) Genetic determinants of blood pressure responses to caffeine drinking. *Am J Clin Nutr* 95:241-248.
 - 10) Lovallo WR, Al'Absi M, Blick K, Whitsett TL, Wilson MF (1996) Stress-like adrenocorticotropin responses to caffeine in young healthy men. *Pharmacol Biochem Behav* 55:365-369.