

機関番号：17501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590148

研究課題名（和文） 漢方薬の生理活性ペプチドを指標とする薬効解析

研究課題名（英文） Studies on clinical pharmaceutical science of Japanese herbal medicines using plasma physiological active peptides levels as biomarkers

研究代表者

武山 正治 (TAKEYAMA MASA HARU)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：40221379

研究成果の概要（和文）：漢方薬の薬理作用の違いを明確にするために、各種生理活性ペプチドを指標とした薬効解析を行うことは有用である。そこで、腹部微小循環改善作用の指標としての VIP, CGRP, SP, 胃や腸の運動障害改善の指標としての Motilin, Gastrin, Somatostatin, 分泌障害改善の指標としての Secretin, CCK, ストレスの指標としての ACTH, β -Endorphin, cortisol の高感度 Enzyme Immunoassay (EIA) を利用して、各種薬剤の薬効解析を目指した。これら体液中ペプチド濃度はきわめて微量であるため、高感度のみならず特異性の高い定量法の確立が必要であり、本 EIA は、血漿中ペプチド濃度の測定には有用である。さらに、大建中湯の作用メカニズムを解明するために、がん患者における便秘の指標としてペプチド濃度との関連性を検討した。その結果、消化器症状の評価には、腹部微小循環改善作用の指標として VIP および SP が、胃や腸の運動障害改善の指標として Motilin および Somatostatin が有用であることが分かった。また、牛車腎気丸（適応：下肢痛、腰痛、しびれ、むくみ等）の作用メカニズムを解明するために、健常成人5名に対し、単回経口投与し経時的に採血し、ペプチド濃度との関連性を検討した。その結果、消化器症状の評価には、腹部微小循環改善作用の指標として VIP が有用であることが分かった。よってこれら生理活性ペプチド濃度は、漢方薬の薬理作用の違いを明確にする指標となることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：In recent years, the actions of drugs used to treat gastrointestinal diseases have been elucidated pharmacologically from the viewpoints of physiological active peptides levels. Therefore, we examined the effects of Japanese herbal medicines on plasma levels of VIP, CGRP, SP, motilin, gastrin, somatostatin, secretin, CCK, ACTH, β -endorphin and cortisol. First, we examined effect of daikenchuto on the symptoms of gastrointestinal obstructions and the plasma levels of various physiological active peptides in seven patients having obstructions of morphine-induced gastrointestinal motility. Daikenchuto significantly raised plasma motilin levels in the responder group on day 7 after oral administration of daikenchuto compared with the nonresponder group and were closer to the levels of normal subjects. Second, we examined effect of goshajinkigan on the plasma levels of various physiological active peptides in five healthy subjects. Goshajinkigan significantly raised plasma VIP levels. These results suggested that plasma physiological active peptides levels were useful as biomarkers for the elucidation of

pharmacological effects of Japanese herbal medicines.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2008 年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 2009 年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 2010 年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

研究分野：医療薬学

科研費の分科・細目：薬効解析学

キーワード：漢方薬、ペプチド

1. 研究開始当初の背景

Substance P (SP) は中枢および末梢神経に広く分布し、一次知覚神経の伝達物質として働くとともに血管拡張作用、腸平滑筋収縮作用、呼吸器平滑筋収縮作用、ストレス時のカテコールアミン分泌作用、免疫調節作用等を有している。Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) は中枢および末梢神経に広く分布し、血管拡張・血流増加作用以外に、呼吸器系、内分泌系、代謝系、免疫系等に作用し、幅広い生理作用を有する。SP, VIP 神経は病気の状態によりその活動が変化し、その結果 SP, VIP の体液中濃度は変動しており、医薬品投与後の薬効評価の指標として有用である。一方、 β -Endorphin, Motilin, Somatostatin, Gastrin, Calcitonin gene-related peptide (CGRP), 等の消化管に存在する生理活性ペプチドは消化管の血流、運動、吸収、分泌などに関与し、その体液中濃度の変化は SP, VIP と同様に薬効評価の指標として有用であると考えられる。しかし、生理活性ペプチドの病態生理学的な研究報告は多いが、医薬品投与に関する研究は非常に少ない。申請者は、SP, VIP, Somatostatin, β -Endorphin, Motilin, Gastrin, CGRP 等の簡便かつ高感度の Enzyme Immunoassay を確立し、病態

生理学的研究や臨床薬理学的研究に応用してきた。上気道炎(風邪)患者や鼻アレルギー患者では血漿中や鼻汁中の SP, VIP 濃度が炎症のために高値であり、抗アレルギー薬を投与すると、病状の改善にもなって体液中の SP, VIP 濃度が正常化すること (J Pharm Pharmacol, 1992 年)、Elcatonin 投与による副作用の顔面紅潮 (Flashing) は血漿中の VIP, Serotonin 濃度の上昇により顔面の血管が拡張することで起こること (J Pharm Pharmacol, 1996 年; Pharm Sci, 1996 年)、Anethole trithione の唾液分泌促進作用は、SP, CGRP 神経が関与し、唾液中の SP, CGRP 濃度が高値になること (Pharm Sci, 1996 年; Pharm Pharmacol Commun, 1998 年)などを報告した。

漢方薬の大建中湯を投与すると血漿中 VIP, Serotonin, Motilin 濃度が上昇し、腹部の冷えや、低下した消化管運動を改善することから、大建中湯の薬理作用に VIP, Serotonin, Motilin が関与すること (Biol Pharm Bull, 1999 年; Biol Pharm Bull, 2000 年)、六君子湯は血漿中の Somatostatin, Gastrin 濃度の上昇を介して、低下した消化管機能を改善すること (Biol Pharm Bull, 2001 年)、半夏瀉心湯は血漿中の Somatostatin, Gastrin, CGRP

の上昇を介して、食欲不振等の消化管機能低下を改善していること(Biol Pharm Bull, 2002年)等を報告してきた。

2. 研究の目的

今回、SP, VIP, Somatostatin, β -Endorphin, CGRP, Motilin, gastrin 等の消化管に多く存在する生理活性ペプチドは、臨床で用いられる消化管作動薬や、消化器症状を改善する漢方薬の薬効判定のよい指標となると考えられる。特に臨床の場で多く用いられている漢方薬は、その有効成分が不明であるために、薬理作用の機序が明確ではない。そこで、食欲不振、消化不良、悪心、嘔吐、胃運動不全、便秘、下痢等の消化器の不定愁訴を改善する漢方薬の薬効評価方法として、消化管の血流、運動、吸収、分泌等制御している生理活性ペプチド濃度の変化を指標として解析することを目的とする。さらに種々の適応を有する漢方薬の薬理作用の解明にも取り組む。

3. 研究の方法

はじめに、がん性疼痛に対してモルヒネ治療後に便秘を生じた7名の担癌患者を対象として、モルヒネ誘発性便秘に対する大建中湯の予防効果と血漿中生理活性ペプチド濃度への効果について検討した。大建中湯エキス顆粒(医療用)は1回5.0gを1日3回食間投与し、血液は大建中湯投与前と投与開始後1, 3, そして7日目に採取後、各種ペプチドの血漿中濃度を測定した。また、消化器症状への効果については大建中湯投与前後の Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS)質問表により検討した。

つぎに、糖尿病性末梢神経障害に伴うしびれや下肢痛への有効性が報告されている牛車腎気丸の薬効と生理活性ペプチドとの関連を明らかにするため、健康成人男性5名を対象に、牛車腎気丸エキス顆粒(医療用)も

しくは生薬成分を除く対照薬をそれぞれ7.5g単回経口投与した後、投与前から投与後30-240分(計7回)の間で計時的に血液を採取後、各種ペプチド濃度を測定した。

4. 研究成果

まず、モルヒネ誘発性便秘に対する大建中湯の予防効果について検討したところ、大建中湯の投与によりGSRSの便秘サブスコアは7例中4例で有意に低下した(図1)。

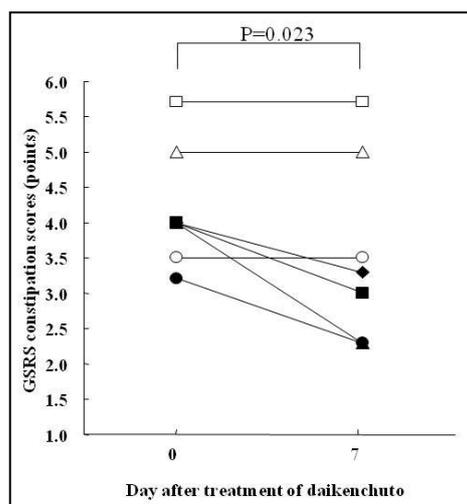


図1. 大建中湯投与開始前後におけるGSRS便秘スコアの変化

次にGSRS便秘サブスコアが改善した有効群と、変化がなかった無効群で血漿中消化管ペプチド濃度を比較した。その結果、両群ともに健常人と比較して血漿中motilin濃度は有意に低値であったが、大建中湯投与後、有効群では健常人と同程度の濃度まで上昇し、無効群と比較して有意な上昇が認められた(図2)。

以上の結果から、大建中湯のモルヒネ誘発性便秘への作用は、発現時間また臨床症状ともに血漿中motilinの変動によってよく説明されるものであり、大建中湯の臨床効果との深い関連が示唆された。したがって、血漿中motilin濃度がオピオイド誘発性便秘における大建中湯の薬効を反映する指標となる可能性が明らかとなった。

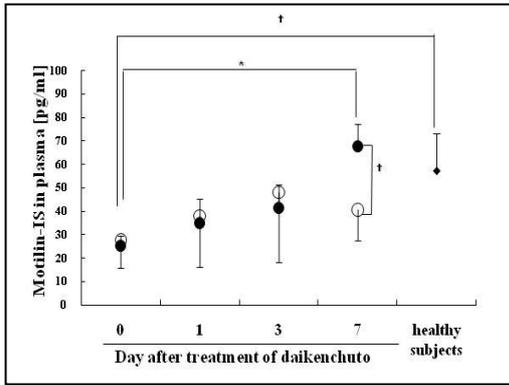


図2. 大建中湯投与開始後の血漿中 motilin 濃度推移と健常人との比較

次に牛車腎気丸の薬理作用と生理活性ペプチドとの関連について検討した。その結果、牛車腎気丸単回経口投与後の血中VIP濃度は対照群に比べ、投与後30、60、120分に有意な上昇を認めた(図3)。さらに、血中CGRP濃度もまた投与後60分に有意に上昇していた(図4)。

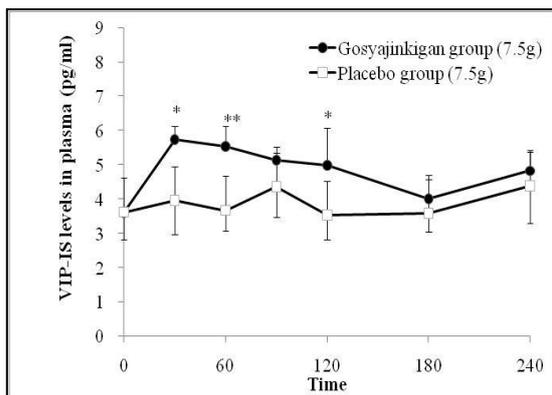


図3. 牛車腎気丸単回投与後の血漿中VIP濃度推移

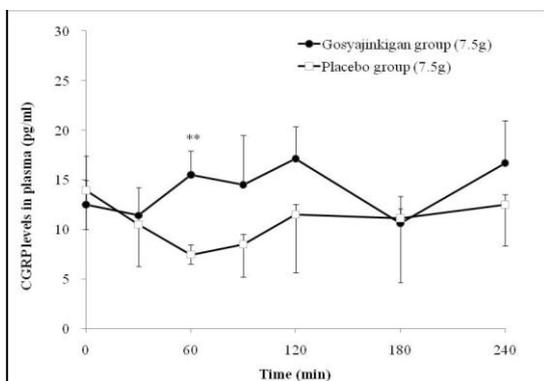


図4. 牛車腎気丸単回投与後の血漿中CGRP濃度推移

牛車腎気丸の薬理作用としては、 κ オピオイド受容体を介する鎮痛作用とNO産生亢進による末梢血流量増加作用が考えられている。本検討により、上記に加えて、牛車腎気丸の薬理作用には末梢血流調節因子として機能しているVIPやCGRPの分泌が関連している可能性が明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

1. Daikenchuto raises plasma levels of motilin in cancer patients with morphine-induced constipation. Sato Y, Itoh H, Takeyama M. *J. Trad. Med.*, **26**(3), 122-130 (2010)

[学会発表] (計2件)

1. 大建中湯がモルヒネ使用による便秘患者における血中消化管ペプチド濃度に与える効果 佐藤雄己, 伊東弘樹, 武山正治 第8回日本臨床腫瘍学会学術集会, 2010年

2. 牛車腎気丸が血中神経ペプチド濃度と血流速度に与える効果 佐藤雄己, 鈴木陽介, 安部智英, 中原良介, 伊東弘樹, 武山正治 第27回和漢薬学会学術大会 2010年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武山 正治 (TAKEYAMA MASAHARU)
大分大学・医学部・教授
研究者番号：40221379

(2) 研究分担者

伊東 弘樹 (ITO HIROKI)
大分大学・医学部・副薬剤部長
研究者番号：50420641

佐藤 雄己 (SATO YUHKI)
大分大学・医学部・主任
研究者番号：00570087