

平成 22 年 4 月 19 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790481

研究課題名 (和文) 潰瘍性大腸炎に対する漢方薬の有効性の評価

研究課題名 (英文) Assessment of efficacy of Kampo medicines on Ulcerative colitis

研究代表者

遠藤 真理 (ENDO MARI)

北里大学・東洋医学総合研究所・研究員

研究者番号：60296829

研究成果の概要 (和文)：黄連解毒湯とその構成生薬である黄芩がデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘発マウス大腸炎を抑制することが報告されているが、他の処方での有効性は明らかではなく、黄芩など特定生薬を除いた処方での検討も報告がない。このモデルで数種類の漢方処方の抗炎症活性を検討すると柴苓湯でも腸管の短縮・ミエロパーオキシダーゼ活性・体重減少の有意な抑制を認めた。柴苓湯を構成する小柴胡湯と五苓散の各処方では抗炎症活性を示さず、柴苓湯の有効性は2処方の合方により発揮される可能性が示唆された。柴苓湯の黄芩一味抜き処方では抗炎症活性を示したが、柴胡の一味抜き処方では抗炎症活性が消失した。以上の結果から DSS 誘発マウス大腸炎における柴苓湯の有効性が明らかとなった。またこのモデルでの柴苓湯の抗炎症作用に柴胡を中心とする生薬の組み合わせが重要である可能性が考えられた。

研究成果の概要 (英文)：It has been reported that the herbal compound, Orengedokuto (OGT), as well as one of its herbal components, a *Scutellariae radix* (*S-r*), was able to suppress inflammation in a DSS-induced murine colitis (DSS colitis). However, there have been no studies of the effects of any other Kampo medicines that may have direct anti-inflammatory activity in this model. There is no available information regarding the effects of Kampo medicines that have been formulated with omission of a single specific herb. In our analysis of the effectiveness of various Kampo formulations in the treatment of DSS colitis, we observed suppression of the shortening of the colon and a decrease in Myeloperoxidase activity, which we believe to be due to the anti-inflammatory activity of Saireito (SRT). We next investigated the anti-inflammatory activity of Shosaikoto (SST) and Goreisan (GRS), which are the two components of SRT. Neither SST nor GRS alone showed anti-inflammatory activity in this model, indicating that the combination of these two compounds is necessary for the anti-inflammatory activity of SRT. Finally, we examined whether SRT retained its anti-inflammatory properties after specific herbs were eliminated from the formulation. The anti-inflammatory activity of SRT was still present after removal of *S-r* from the formulation. Alternatively, SRT that lacked *Bupleuri radix* (*B-r*) did not retain any anti-inflammatory activity. These results imply that the anti-inflammatory activity of SRT on DSS colitis is dependent on the inclusion of *B-r* or the combination between *B-r* and other herbs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般

キーワード：東洋医学

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎は、近年その罹患者数の増加

傾向が指摘されている。漢方薬は、臨床では、潰瘍性大腸炎を含む慢性の炎症性疾患に広

く用いられるが、漢方薬の炎症性腸疾患に対する有効性を実験的に検討した報告は少ない。

これまでに、黄連解毒湯が DSS 誘発大腸炎モデルマウスで炎症所見改善作用および免疫系を正常方向に改善させる作用を示したことが報告されている (*J Trad Med*, 17, 2, 66-72, 2000.)。しかし、この他の処方でもこのモデルで有効性を示すのかどうかは明らかでない。

さらに、黄連解毒湯の構成生薬である黄芩が DSS 誘発大腸炎モデルマウスに対して炎症反応を調節することが報告されており (*J Trad Med*, 17, 5, 173-179, 2000.)、その主要成分であるバイカレインが働きを中心に示していることが報告されている (*Planta Med*, 68(3), 268-71, 2002.)。しかし、これらの報告では構成生薬それぞれの単味を投与した場合の結果である。臨床では、漢方薬は組

み合わされた生薬が水から煎じて抽出された薬液として処方されるため、その過程における成分同士の化学反応も無視出来ないが、黄芩などの特定の各構成生薬中の一味だけを抜いた煎液を投与した場合に単味投与と違いが無いのかどうかの検討は報告がない。

2. 研究の目的

漢方薬は潰瘍性大腸炎 (UC) を含む慢性的炎症性疾患に広く用いられている。

黄連解毒湯とその構成生薬である黄芩がデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘発マウス大腸炎を抑制することが報告されているが、その他の処方でもこのモデルで有効性を示すのかは明らかではない。

また、黄芩などの特定生薬を除きたいわゆる一味抜き処方での検討も報告されていない。

そこで、このモデルにおいて臨床で UC を含む慢性疾患に用いられる漢方薬だけでなく、炎症には直接的に作用することがないと考えられる漢方処方 13 種類の抗炎症活性をスクリーニングし、黄連解毒湯以外の漢方薬での抗炎症作用を検討した。

さらに、有効処方に対して、処方を構成する各処方での抗炎症作用を検討し、さらに、基本骨格となる生薬を除いても有効性を保つか否かを検討した。

3. 研究の方法

7 週齢 雄性的 BALB/c マウスに 5%DSS を自由飲水にて 7 日間経口投与し、潰瘍性大腸炎モデルマウスを作製した。

漢方薬と各処方から特定の構成生薬を除いて煎じた各煎じ液から作製した凍結乾燥エキスをヒト 1 日用量とし、その 20 倍量に

なるようにマウスの体重当りに換算し、DSS 投与開始より 1 日 1 回、7 日間経口投与した。

8 日目に大腸を摘出し炎症に対する効果を、大腸全長、ヘマトキシリンエオシン (HE) 染色による病理組織学的検討、ミクロペルオキシダーゼ (MPO) 活性、インターロイキン-1 ベータ (IL-1 β) インターフェロンガンマ (IFN- γ) の測定を指標に用いて評価した。

4. 研究成果

(1) デキストラン硫酸マウス大腸炎モデルに対する 13 種類の漢方薬の抗炎症作用のスクリーニング

	Length of colon (cm)	MPO activity (U / g wet tissue)
Normal	15.27 \pm 0.14	2.12 \pm 0.64
Control	9.13 \pm 0.40 #	9.94 \pm 2.03 #
Orengedokuto	11.43 \pm 0.67 *	3.45 \pm 1.91 *
Saireito	11.17 \pm 1.04 *	4.84 \pm 2.64 *
Hochuekkito	10.57 \pm 0.21	11.33 \pm 5.50
Kososan	9.40 \pm 1.08	12.75 \pm 4.43
Hangekobokuto	9.90 \pm 0.95	14.39 \pm 7.40
Shimotsuto	9.63 \pm 1.16	9.35 \pm 5.39
Ryokeijutsukanto	9.53 \pm 0.96	8.95 \pm 6.24
Yokukansan	10.07 \pm 0.32	5.22 \pm 5.10
Keishibukuryogan	9.77 \pm 0.25	11.11 \pm 3.88
Maoto	10.73 \pm 0.79 *	7.57 \pm 2.51
Daijokito	9.37 \pm 0.87	7.90 \pm 5.10
Juzentaihoto	9.77 \pm 0.23	9.13 \pm 5.75
Shigyakuto	9.87 \pm 0.23	9.69 \pm 0.59
Salazosulfapyridine	11.45 \pm 0.20 *	2.249 \pm 0.17 *

* 黄連解毒湯だけでなく、柴苓湯においても、DSS の投与によるマウス腸管の短縮、MPO 活性、体重減少の有意な抑制が認められた。

このことから、柴苓湯にも DSS 誘発マウス大腸炎モデルに対する抗炎症活性があることが示唆された。

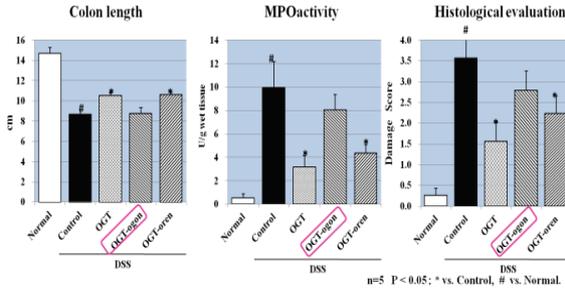
柴苓湯と黄連解毒湯は、臨床的に潰瘍性大腸炎に用いる機会のある処方であることから、このモデルが漢方薬の薬効評価に応用出来ることを示した。

また、黄連解毒湯の DSS 誘発マウス大腸炎モデルに対する抗炎症活性はサラゾピリンと同程度であることを示した。

(2) デキストラン硫酸マウス大腸炎モデルに対する黄連解毒湯の黄芩・黄連の一味抜き処方での抗炎症活性の検討

黄芩や黄連は潰瘍性大腸炎を含む炎症性疾患に対する漢方処方での抗炎症作用の中心と考えられている。

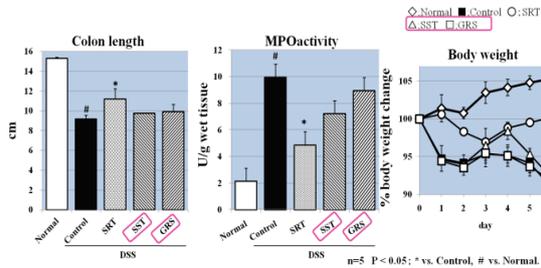
しかし、黄芩単味での検討はあるが、一味抜き処方での検討はない。処方を構成する沢山の生薬のうち一薬のみが作用を担っているのかは明らかではないためこれら生薬を除いた煎じた黄連解毒湯を用いて検討を行った。



* 黄連解毒湯から黄芩を除いた一味抜き処方では、抗炎症活性が消失した。
* 黄連の一味抜き処方では、抗炎症活性を示した。

このことから、黄連解毒湯の DSS 誘発マウス大腸炎モデルに対する抗炎症活性は黄芩を中心とした生薬が関係している可能性が示唆された。

(3) デキストラン硫酸マウス大腸炎モデルに対する柴苓湯を構成する処方である小柴胡湯と五苓散の抗炎症作用の検討



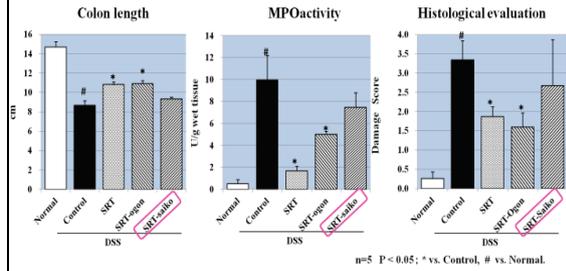
* 小柴胡湯と五苓散のどちらの処方でも抗炎症活性を示さなかった。

このことから、柴苓湯のデキストラン硫酸ナトリウム誘発マウスモデルに対する抗炎症活性は小柴胡湯と五苓散を合方することで発揮される可能性が示唆された。

(4) デキストラン硫酸マウス大腸炎モデルに対する柴苓湯の黄芩・柴胡の一味抜き処方での抗炎症活性の検討

柴胡は免疫調節作用に対する中心的生薬であると考えられているが、潰瘍性大腸炎に対する効果は報告されていない。そこで、柴胡

の一味抜き処方についても検討した。



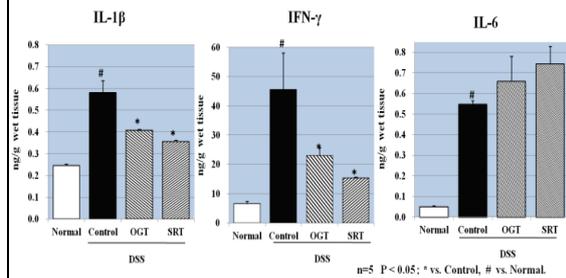
* 柴苓湯から黄芩を除いた一味抜き処方では、黄連解毒湯とは異なり抗炎症活性を示した。
* 同様に柴胡の一味抜き処方では、柴苓湯の抗炎症活性が消失した。

このことから、漢方薬の DSS 誘発マウス大腸炎モデルに対する抗炎症活性は黄芩以外にもあることが示唆された。

柴苓湯の抗炎症活性は、柴胡を中心とした構成生薬または生薬同士の組み合わせが、DSS 誘発マウス大腸炎モデルにおける抗炎症活性に關与している可能性が示唆された。

(5) デキストラン硫酸マウス大腸炎モデルに対する黄連解毒湯と柴苓湯の炎症性サイトカインに対する効果の検討

潰瘍性大腸炎の病因には遺伝や環境や免疫調節による因子の複合的相互作用を含むと考えられている。粘膜の免疫反応の異常により、大腸局所での炎症性サイトカインのバランスがくずれることが知られており、潰瘍性大腸炎の患者でも色々なサイトカインが上昇することが知られる。



* IL-1β と IFN-γ では黄連解毒湯でも柴苓湯でも有意に減少した。
* IL-6 では投与後も投与前に比べて変化を示さなかった。

このことから、IL-6 は DSS の産生が DSS 誘発大腸炎の発症メカニズムの一つであることが考えられた。また、漢方薬の DSS 誘発大腸炎に対する薬効発現には、IL-1β と IFN-γ の産生を抑制することが、活性メカニズムの一つとして関係

する可能性が考えられた。

(6) 小括

- ① 今回新たに DSS 誘発マウス大腸炎モデルにおける柴苓湯の有効性が明らかとなった。
- ② このモデルにおける柴苓湯の抗炎症活性には、柴胡を中心とする生薬の組合せが重要である可能性が考えられた。

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)

Mari ENDO, Tetsuro OIKAWA, Takayuki HOSHINO, Tsutomu HATORI, Tsukasa MATSUMOTO, Toshihiko HANAWA: Suppression of murine colitis by Kampo medicines, with special reference to the efficacy of saireito. *J Trad Med*, 26(3), 110-121, 2009.

[学会発表] (計 2 件)

- ① 遠藤真理、及川哲郎、羽鳥努、松本司、花輪壽彦: デキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸炎モデルに対する漢方薬の有効性 ~Balb/c マウスと C57/BL マウスの比較検討~, 第 25 回和漢医薬学会, 2009. 8. 30, 千葉
- ② 遠藤真理、及川哲郎、羽鳥努、花輪壽彦: デキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸炎モデルに対する漢方薬の有効性の検討, 第 25 回和漢医薬学会, 2008. 8. 30, 大阪

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤真理 (ENDO MARI)

北里大学・東洋医学総合研究所・研究員

研究者番号: 60296829

(2) 研究分担者 なし

()

研究者番号:

(3) 連携研究者 なし

()

研究者番号: