

平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：33304

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26860071

研究課題名(和文) 腸管粘膜系免疫細胞に対する漢方方剤の作用解析

研究課題名(英文) Study of herbal medicine for the intestinal tract immunity

研究代表者

田邊 宏樹 (TANABE, Hiroki)

北陸大学・薬学部・准教授

研究者番号：10415606

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：漢方方剤の免疫調節作用を考えると、投与された漢方方剤成分が腸管免疫系に作用することで効果を発揮している可能性が考えられる。本研究では、漢方方剤に使用される生薬エキスの腸管免疫系細胞に及ぼす影響を検討することで、漢方方剤の作用機序の解明を試みるため、樹状細胞に対する作用を検討した。また、併せて病態モデルに対する有効性の評価も実施した。

研究成果の概要(英文)：The immune-regulation effect of herbal medicine is considered that the ability of herbal medicine against the intestinal tract immunity. This work was examined influence to an intestinal tract immune system cell of crude drug extract used for herbal medicine and contributes to clarify the mechanism of immune-regulation by herbal medicine. Furthermore, the study for food allergy using model mouse was carried out.

研究分野：生薬学

キーワード：腸管免疫 樹状細胞 生薬エキス

## 1. 研究開始当初の背景

漢方医学の概念にある「気・血・水」のうち、「気」には「後天の気」と呼ばれる胃腸管からの栄養素の吸収という考え方があることから、この「気」に作用する「漢方方剤」や「生薬」の中には、腸管免疫を調節し、腸管機能を整えることで薬効を示すものがあると考えられる。しかしながら、十分なエビデンスが得られていないことから、その解明には至っていないのが現状である。その要因として考えられるのが、漢方方剤そのものの「多様性」と腸管免疫系の「複雑さ」が考えられる。つまり、複数の化合物を含有する「生薬」を構成単位とする「漢方方剤」は、多数の分子標的を有しており、それらの作用の総和により有効性を発揮していると考えられる。また、腸管免疫系も単一の細胞で制御されているのではなく、複数の免疫細胞によって制御されている。しかしながら、多成分による多様性が、複雑な免疫細胞に様々な作用することが、単一成分の医薬品にはない漢方方剤の強みであることは言うまでもない。

これまで漢方方剤は、その作用の強さからあまり注目されてはいなかったが、近年、六君子湯(機能性ディスぺプシア)や抑肝散(認知症患者の症状軽減)などが注目を集めている。中でも大建中湯は術後イレウスに対して、その有効性が評価されている。このように現代医学における疾患に対しても、漢方方剤はその治療に対して未知なる可能性を秘めていると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では、腸管免疫細胞の中でも、形質細胞様樹状細胞、Naïve T 細胞、粘膜型肥満細胞に焦点を絞り、それらの機能調節作用を有する漢方方剤・生薬・天然物を探索し、更にその作用の機序を解析することで、漢方方剤の作用機序も解明を試みることを目的とする。樹状細胞に関しては、成熟度に対する評価と、各種遺伝子発現を評価することで、生薬エキスによる機能調節作用を検討することを目的とした。

また、腸管免疫と漢方方剤・生薬の効果を検討するため、食物アレルギーモデルマウスに対する有効性の評価も本研究では実施した。

## 3. 研究の方法

樹状細胞は BALB/c マウスの骨髄細胞より、GM-CSF 及び IL-4 存在下で分化誘導した樹状細胞に対して、各種生薬エキスの評価を実施した。評価した内容は、樹状細胞の成熟度をフローサイトメトリーにて測定した。また各種遺伝子発現レベルをリアルタイム PCR 法にて評価した。

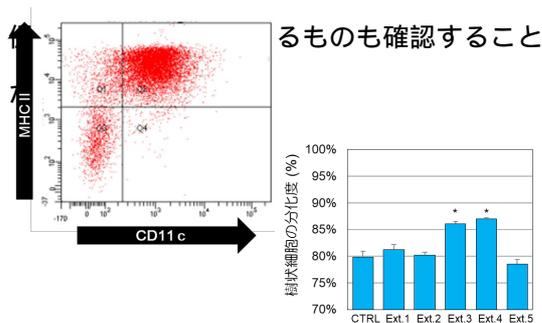
また、食物アレルギーモデルマウスは、BALB/c マウスに ovalbumin (OVA) を 2 回全身感作し、繰り返し OVA を経口投与することで作製した。

## 4. 研究成果

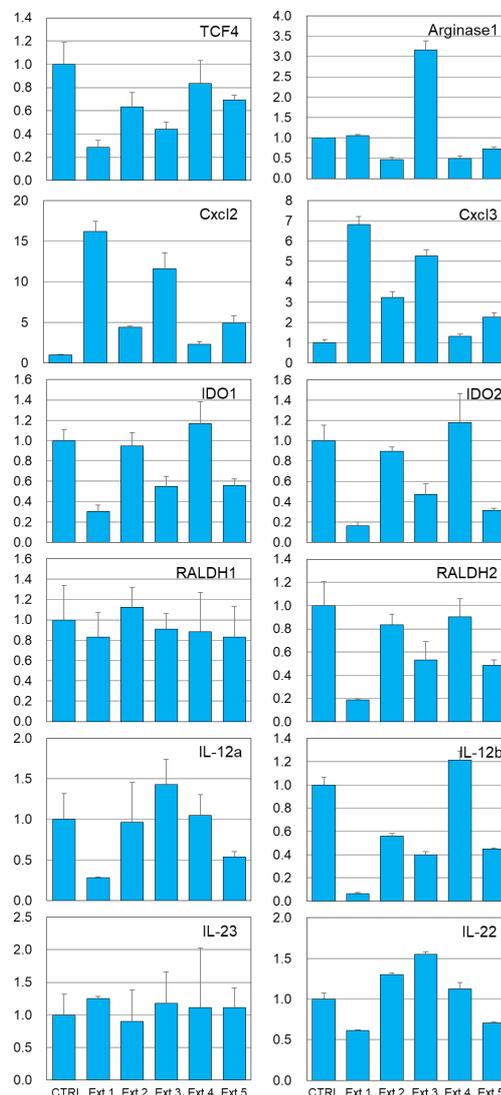
### (1) 樹状細胞に対する生薬エキスの効果

2 種類のサイトカインを用いて骨髄細胞よ

り分化誘導した樹状細胞の成熟度に対する評価を実施した。評価は、細胞膜表面マーカーである、抗原提示細胞に発現の見られる主要組織適合抗原 MHC クラス II 分子と、インテグリン  $\alpha$ X (CD11c) 抗原に対する 2 種類の抗体を用いて、フローサイトメトリーを用いて解析した。生薬エキスの中には、分化を



るものも確認すること  
また、その際回収した細胞より RNA を抽出し、リアルタイム PCR 法を用いて検討した。検討した分子種としては、樹状細胞の成熟に必須となる転写因子 E2-2 (TCF4) と、ケモカインである Cxcl2 及び Cxcl3、Arginase1、トリプトファン代謝酵素である Indoleamine 2,3-Dioxygenase (IDO) 1 および 2、retinoic acid の合成に關与する RALDH1 及び 2、サイトカイン類の IL-12a 及び b、IL-22 と IL-23 の計 12 種類に関して検討した。特に Arginase1、IDO-1 及び 2、RALDH1 及び 2 は樹状細胞による制御性 T 細胞誘導に深く關連する遺伝子である。また、サイトカインである IL-12 は樹状細胞などから分泌され、休止期の Naive CD4<sup>+</sup> T 細胞を活性化し、IL-23 はメモリー CD4<sup>+</sup> T 細胞を活性化し、IL-17 高産生 T 細胞 (Th17) の増殖に關与する。また、IL-22 は制御性サイトカインとして、活性化した樹状細胞などから分泌されます。



その結果、大きく発現変動する分子 (Arginase1、Cxcl2、Cxcl3) もあれば、あまり発現変動の見られない分子 (IL-23) を確認することができた。

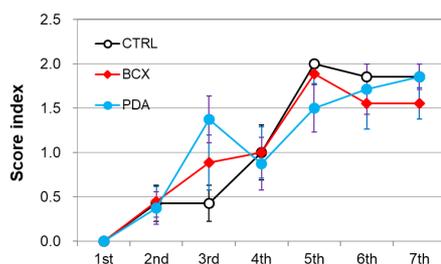
これらの知見を集積することで、複雑な腸管免疫系に対する生薬・漢方方剤の基礎的なエビデンスが収集できるものとする。

## (2) 食物アレルギーモデルマウスに対する有効性の評価

腸管免疫と漢方方剤・生薬の効果を検討するため、食物アレルギーモデルマウスに対する有効性の評価を実施した。食物アレルギー

に対しては、retinoic acid が有効性を示すことが報告されている。そこで、研究代表者がこれまで報告している天然由来 retinoic acid receptor agonist である  $\beta$ -クリプトキサンチン (BCX)<sup>1)</sup> と、*ent*-pimara-8(14),15-dien-19-oic acid (PDA)<sup>2)</sup> を用いてその有効性を評価した。

投与期間は、OVA による全身感作 2 回目終了 1 週間後より自由引水投与で行い、一日投与量を RAR に対するアゴニスト活性値を参考に 100  $\mu$ g/kg (BCX) と 15 mg/kg に設定して投与を行った。OVA の胃内強制投与による Challenge は化合物の投与開始日から 2 日に 1 回のペースで実施した。症状の評価は、Challenge 後マウスを 1 匹ずつに隔離し、2 時間後の糞便を score 法 (軟便 1、下痢 2) で評価した。



しかしながら、今回用いた BCX 及び PDA による発症抑制効果は認められなかった。

今回の研究では、有用な結果は得られなかったが、多くの生薬に関して様々なアプローチによる結果を集積することで、エビデンスの少ない漢方方剤や生薬による医療への貢献が今以上に可能になるものとする。

#### 【参考文献】

- 1) Shirakura Y, Takayanagi K, Mukai K, Tanabe H, Inoue M. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 57, 426-431 (2011).
- 2) Tanabe H, Yasui T, Kotani H, Nagatsu A, Makishima M, Amagaya S, Inoue

M. : *Bioorg. Med. Chem.*, 22(12).  
3204-3212 (2014)

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田邊 宏樹 (TANABE, Hiroki)

北陸大学薬学部薬学科・准教授

研究者番号: 10415606