

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 23 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460911

研究課題名(和文)腸閉塞モデルマウスにおける大建中湯の有効性とその作用機序

研究課題名(英文) Zingiberis Siccata Rhizoma, active component in Kampo formula Daikenchuto ameliorates postoperative ileus through inhibition of macrophage infiltration

研究代表者

及川 哲郎(Oikawa, Teturo)

北里大学・東洋医学総合研究所・研究員

研究者番号：10370165

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：大建中湯(DKT)のどの生薬がPOIモデルの抗炎症作用に対して最も重要なのかを検討した。そこで、DKTの構成生薬一味ずつ投与した場合に、POIモデルにおけるマクロファージ浸潤抑制作用と好中球浸潤抑制作用が変化するのかを検討した。その結果、乾姜にマクロファージ浸潤抑制作用があることが明らかとなった。さらに、乾姜がPOIにおけるDKTのマクロファージ浸潤抑制を介した抗炎症作用の活性生薬として同定された。乾姜の抗炎症作用は、5-HT4Rを介したアセチルコリン分泌促進を介した  $\alpha 7$ nAChRの活性化によることが示された。

研究成果の概要(英文)：We previously reported that Daikenchuto (DKT), a gastrointestinal prokinetic Japanese herbal medicine, serves as a novel therapeutic agent for postoperative ileus (POI) characterized by its anti-inflammatory potency, which may be partly mediated by activation of  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor (nAChR). In this study, we attempted to identify the target herb(s) in DKT to induce anti-inflammatory activity. The macrophage infiltration-suppressing action as part of the anti-inflammatory activity of DKT in POI is dependent on the inclusion of zingiberis processum rhizome. Zingiberis processum rhizome may be a main component which induces anti-inflammatory activity for POI.

研究分野：漢方薬学

キーワード：抗炎症作用 POI 乾姜 マクロファージ 大建中湯

1. 研究開始当初の背景

大建中湯は開腹外科手術後腸閉塞(POI)に対し有効であることが報告され、その効果はコリン作動性神経とセロトニン受容体の活性化やモチリン分泌亢進を介した消化管運動促進に基づくと考えられている。一方で近年、POIの原因として手術局所の消化管壁の炎症応答が重要であることが分かり、特に消化管筋層部における常在型マクロファージや血流を介して浸潤する単球や好中球の炎症応答がその中心的役割を担っていることが明らかにされた。

2. 研究の目的

本研究では大建中湯の POI 治療効果に、従来の消化管運動機能改善に加えて抗炎症作用が関与するのではないかと考え、マウス POI モデルを用いて大建中湯の POI 抑制における作用機序を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

マウス術後腸管麻痺(POI)モデルを用い、大建中湯の胃排出や消化管運動の遅延における回復作用と、筋層部炎症細胞に対するマクロファージを介した抗炎症作用を示すことを明らかにし、有効性評価に適した投与スケジュールや投与濃度を検討した。

大建中湯の POI における抗炎症作用がマクロファージのコリン作動性神経 α7 アセチルコリン受容体や 5HT<sub>3</sub> 受容体の抑制を介している可能性を、各抑制剤を用いて検討した。

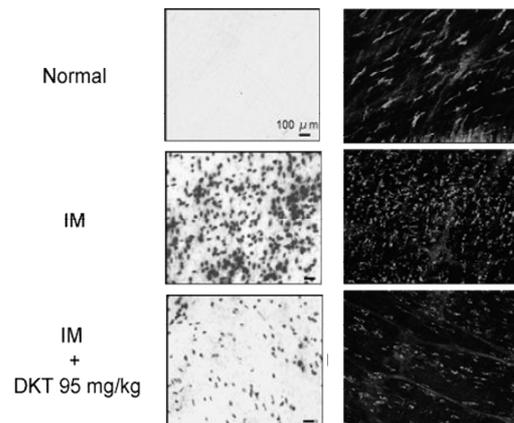
③抗炎症作用がコリン作動性神経 α7 アセチルコリン受容体の抑制を介する作用であるか、ノックアウトマウスを用いた検討を行った。

抗炎症作用と POI 改善の機序の詳細を検討した。

大建中湯の構成生薬単位でもマウス POI に有効性を示すか否かを検討した。

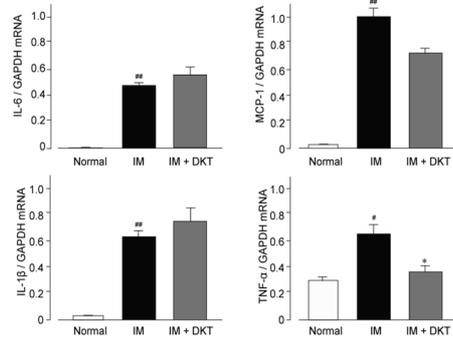
4. 研究成果

大建中湯の好中球浸潤とマクロファージ浸潤抑制



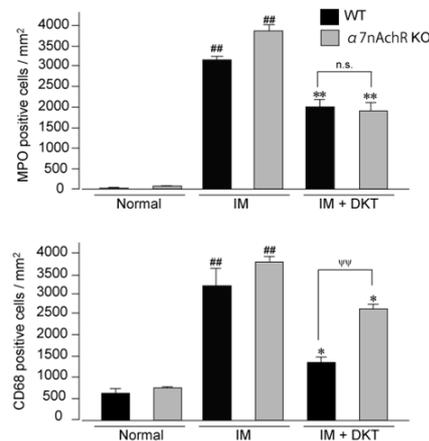
大建中湯は POI による好中球浸潤とマクロファージ浸潤を有意に抑制した。

大建中湯の炎症性サイトカインに対する作用



IM 群では IL-6、MCP-1、IL-1β、TNF-α の mRNA の発現が、Normal に比べて有意に増加し、大建中湯は TNF-α を有意に抑制させた。

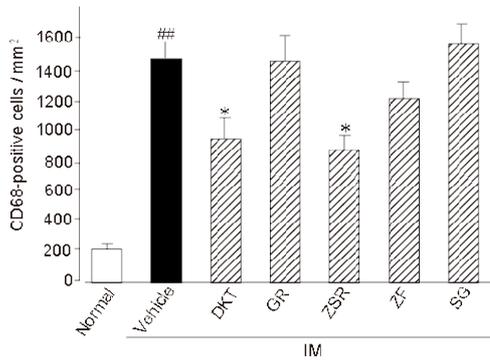
α7nAChRKO マウスにおける DKT のマクロファージ浸潤抑制の減少



好中球の浸潤においては、WT では、大建中湯の投与で IM による MPO 陽性細胞数増加の抑制を示しているのに対し、KO マウスにおいても、大建中湯により IM による MPO 陽性細胞数増加の抑制を示しており、WT と KO との間に変化が見られなかった。一方で、マクロファージの浸潤に関しては、WT で大建中湯の投与で IM による上昇を抑制しているのに対し、KO でも大建中湯で IM による上昇を依然抑制はしているものの、WT と KO を比較すると有意にその抑制作用が減少していた。

以上のことから、大建中湯は POI 治療において、消化管運動機能亢進作用に加えて、抗炎症作用を示すことが初めて明らかとなった。この抗炎症作用の作用機序の一部に、セロトニン 4 受容体刺激によりコリン作動性筋層間神経叢からアセチルコリン分泌が促進し、このアセチルコリンが炎症により活性化したマクロファージの細胞膜上の α7 ニコチン性アセチルコリン受容体を活性化し、抗炎症作用を発揮する可能性が考えられた。

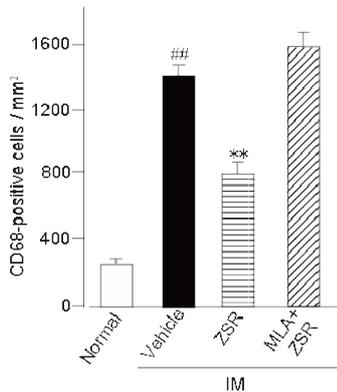
乾姜のマクロファージ浸潤抑制作用



GR:人參、ZSR:乾姜、ZF:山椒、SG:膠飴

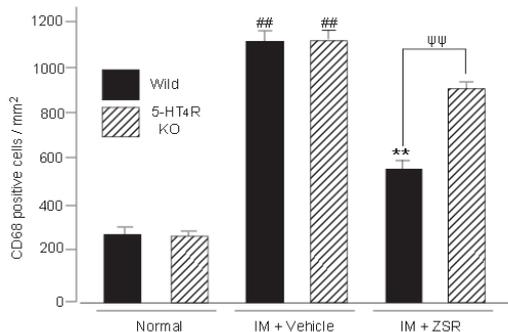
大建中湯の各構成生薬一味を投与した結果、乾姜の投与で POI におけるマクロファージ浸潤を抑制した。

$\alpha 7nAChR$  阻害剤による乾姜のマクロファージ浸潤抑制作用の消失



あらかじめ  $7nAChR$  阻害剤を投与しておく、乾姜のマクロファージ浸潤抑制作用が消失した。

5-HT4R KO マウスにおける乾姜のマクロファージ浸潤抑制作用の減少



WT で大建中湯の投与で IM による上昇を抑制しているのに対し、KO でも大建中湯で IM による上昇を依然わずかに抑制傾向を示しているものの、WT と KO を比較すると有意にその抑制作用が減少していた。

以上のことから、乾姜の POI に対する抗炎症作用は、直接の  $\alpha 7nAChR$  活性化ではなく、5HT-4R を介した神経叢のコリン作動性神経か

らの ACh 分泌促進によるマクロファージ細胞膜上の  $\alpha 7nAChR$  の活性化であることが示唆された。

## 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, Masatoshi HORI, Hiroshi OZAKI, Tetsuro OIKAWA, Toshihiko HANAWA, Daikenchuto, a traditional japanese herbal medicine, ameliorates postoperative ileus by anti-inflammatory action through nicotinic acetylcholine receptors. Journal of Gastroenterology. 49(6), 1026-39. 2013.6

(学会発表) (計 5 件)

及川哲郎, 遠藤真理, 堀 正敏, 尾崎博, 花輪壽彦;大建中湯の 7 ニコチン性アセチルコリン受容体を介した抗炎症作用による術後腸管麻痺改善効果(ワークショップ), 第 10 回日本消化管学会総会, 2014.2.14, 福島

及川哲郎, 遠藤真理, 堀 正敏;消化管における漢方薬の神経性抗炎症作用~大建中湯を中心に~, 第 56 回日本消化器病学会大会, 2014.10.25, 神戸

遠藤真理, 堀 正敏, 及川哲郎, 尾崎博, 花輪壽彦;大建中湯の 7 ニコチン性アセチルコリン受容体活性化による抗炎症作用を介した術後腸管麻痺改善効果~抗炎症作用を有する生薬の同定~, 第 16 回日本神経消化器病学会, 2014.11.7, 東京

遠藤真理, 堀 正敏, 及川哲郎, 尾崎博, 花輪壽彦;大建中湯の抗炎症作用~術後腸管麻痺モデルマウスで抗炎症作用を発揮する生薬の同定~, 第 32 回和漢医薬学会大会, 2015.8.22, 富山

遠藤真理, 堀 正敏, 及川哲郎, 尾崎博, 小田口 浩, 花輪壽彦;大建中湯の構成生薬・乾姜の抗炎症作用を介した術後腸管麻痺改善効果, 第 17 回日本神経消化器病学会, 2015.11.13, 沖縄

(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  
なし

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者(OIKAWA, Tetsuro)

及川哲郎

北里大学・東洋医学総合研究所・研究員

研究者番号:10370165

(2) 連携研究者(HORI, Masatoshi)

堀 正敏

東京大学・大学院農学生命科学研究科獣医

薬理学教室・准教授

研究者番号: 70211517

(3)連携研究者

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