

気腫性病変モデルマウスの 肺気腫および肺老化に対する 人參養栄湯の作用 (2)



クラシエ株式会社 漢方研究所

下山 泰輝、嶋田 裕己、道原 成和、千葉 殖幹

はじめに

慢性閉塞性肺疾患(COPD)は、呼吸困難を主症状とする進行性の肺・気道疾患である。その病態は、タバコ煙などに含まれる有害物質により、気道に慢性的な炎症が生じ気管支の狭窄が進行することから始まる。さらに、気道末梢で肺胞を構成する肺上皮細胞では細胞死や老化が誘発され、肺の構造破壊と機能低下も引き起こし、結果として呼吸困難を呈する。

厚生労働省の統計によると、2023年にCOPDで治療を受けている患者は全国で38万2,000人であり、年々増加傾向にある。さらに大規模疫学調査¹⁾では、40歳以上の日本人でCOPD症状を有する者は約530万人にのぼると推定され、未診断の潜在患者が多数存在することが示唆されている。また、COPDによる死亡者数も一貫して増加し、2023年には1975年の約4.3倍に達している。

一方興味深いことに、COPDの主原因(9割以上)である習慣的な喫煙率は、1975年をピークに一貫して減少しており、特に2003年から2023年の20年間で27.7%から15.7%へと半減している²⁾。COPDは20年程度の喫煙歴を経て発症する疾患であるため、過去の喫煙者の増加が現在の死亡者数の上昇に寄与している可能性も考えられる。しかし、習慣的喫煙者の95%が20代以下で喫煙を開始しており、特に70代以上のCOPD患者の割合が多いこと²⁾、さらに近年の急速な高齢化を考慮すると、COPD診断の増加要因として「老化」の関与が強く示唆される。このため近年では、COPDは単なる喫煙関連疾患ではなく、喫煙を起因としつつも加齢に伴う病態変化を反映する「老化関連疾患」として再定義されつつある。

実際、喫煙を伴わない自然老化モデルでも、肺胞壁の破壊や肺胞空域の拡大といった組織像が報告されている^{3, 4)}。これは、老化肺組織では、老化細胞が蓄積し、これらの細胞が炎症性サイトカインやプロテアーゼなどを分泌するSASP(Senescence-Associated Secretory Phenotype)を形成することで、慢性炎症に続く組織修復の破綻が引き

起こされるためと考えられている。さらに、加齢だけでなくCOPDの原因であるタバコ煙曝露に伴う慢性炎症は、それだけで肺組織の老化を著しく促進し、肺機能を低下させることが、多くの研究で示されている^{5, 6)}。

一方、加齢とタバコ煙などのCOPD誘導の併存に関しては、やや議論は残るものの、肺への炎症細胞の浸潤増加、プロテアーゼ活性の上昇、気腔の顕著な拡大、弾性線維分解、肺コンプライアンスの増加、気道のリモデリングの顕著な増加が認められている。これに対し、同じCOPD誘導を行った若齢個体では、病態の進行が緩やかであることが報告されている^{7, 8)}。さらに、老化細胞の除去がCOPDの病態改善に寄与することも報告されており^{9, 10)}、様々な要因による肺組織の老化そのものがCOPDを増悪させることが明確になってきた。

このため、近年のCOPD治療法の開発において、抗老化を標的とした薬理的介入が注目されている。特に、老化細胞を選択的に除去するセノリティクスや、ミトコンドリア活性化薬、抗酸化物質、AMPK活性化剤、GDF11活性化剤などの開発が進められている。

一方、この流れの中で漢方薬の抗酸化・抗炎症作用を通じた老化病態の軽減効果にも関心が高まっている。中でも人參養栄湯は、生体での高い抗酸化作用や炎症抑制作用、ミトコンドリアの機能改善作用も報告されている¹¹⁻¹⁵⁾。この処方、虚弱者の体力低下や食欲不振、疲労倦怠、貧血の改善などの効能をもち、近年は老化関連疾患への応用が進んでいる。COPDに対する基礎研究では、肺胞破壊抑制や呼吸機能の改善が報告され、臨床研究でも、高齢COPD患者の疲労倦怠感の軽減、咳症状改善、運動耐容性の改善などへの寄与が示されている。

以前にわれわれは、加齢マウスに炎症性COPD誘導を重ねたモデルで、人參養栄湯による肺状態の改善を報告していた。そこで、本研究では同モデルを使って、肺組織老化に対する人參養栄湯の作用を検討したので報告する。

人参養栄湯の持続投与がPPE誘発性COPDモデルマウスの肺構造および炎症に与える影響

〈方法〉

80週齢(雄)のC57BL6/Jマウス(ジャクソンラボラトリー)を導入し、porcine pancreatic elastase(PPE, 4.0U/匹)を経肺投与して気腫性モデルを作製した。投与後4日目から、健常群(MF固型飼料)、モデル群(MF固型飼料)、人参養栄湯1%混餌群(人参養栄湯エキス1%含有MF固型飼料)、人参養栄湯3%混餌群(人参養栄湯エキス3%含有MF固型飼料)に分け、混餌投与を開始した。混餌開始後20週で解剖し、肺を採取した。左肺はPFA固定後に免疫染色を行い、老化マーカーであるβ-galactosidase(β-gal)の陽性率を算出した。なお、群間の有意差検定にはDunnett testを用い、危険率5%未満(p<0.05)を有意差ありと判断した。

〈結果〉

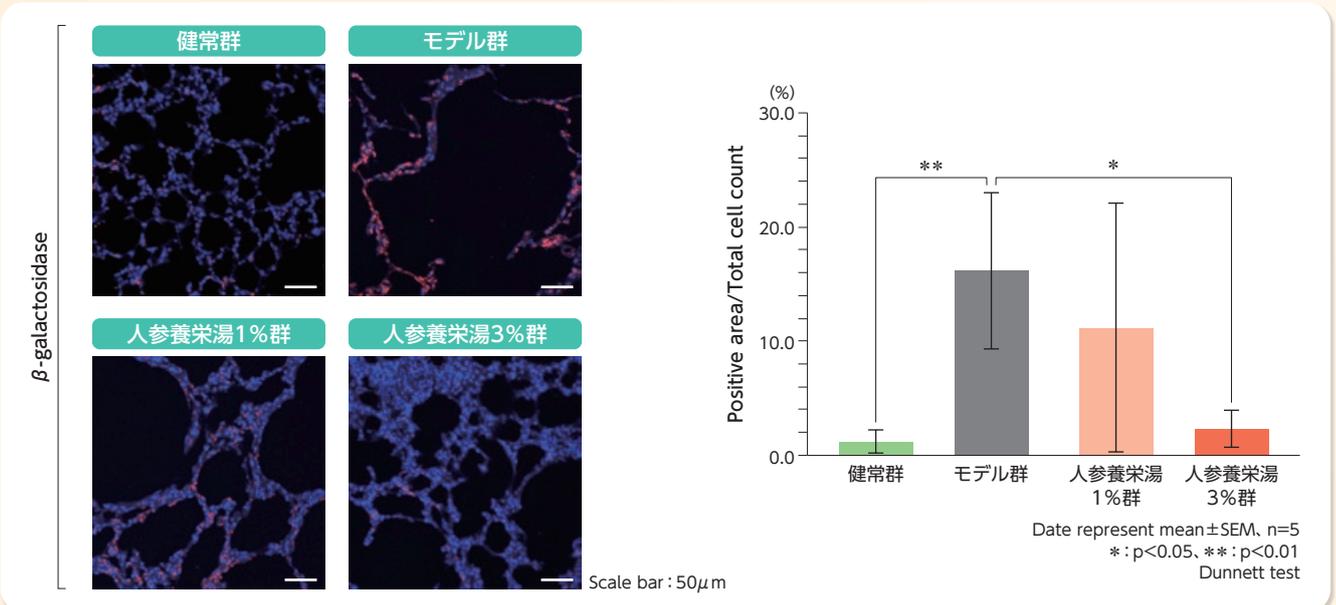
COPD病態モデルにおける肺組織の老化マーカーとしてβ-galを測定した。その結果、モデル群ではβ-gal陽性面積が有意に上昇し、肺組織における老化細胞の増加が示唆された。一方、人参養栄湯3%混餌群では、陽性面積が有意に低下し、老化細胞の増加が抑制されたことが確認された(図)。

加齢と喫煙は、慢性閉塞性肺疾患(COPD)の発症と進行における主要な危険因子として広く認識されている。近年、COPDの病態は、肺の老化が加速された状態であるとする研究が増えている。成人では、肺機能が加齢に伴い徐々に低下するが、このプロセスは呼吸に伴う酸化ストレスの自然発生や、肺における老化細胞蓄積による慢性炎症と関連している。タバコ煙は、この自然な老化プロセスをさらに悪化させ、酸化ストレスによるDNA損傷を介したストレス誘発性細胞老化や老化性炎症SASPを加速させることが知られている¹⁶⁾。

自然老化モデルにCOPD誘導を短期間(3ヵ月程度)実施した場合、呼吸機能の低下や肺組織の破壊が若齢マウスと比較して顕著に増悪することが複数の研究で報告されている^{7, 8)}。これは、加齢に伴いすでに細胞老化や慢性炎症が進行している肺組織が、COPD刺激という追加的な負荷を受けることで、より急速に病態を悪化させることを示している。つまり、加齢はCOPDに対する感受性を高め、病態の進行を加速させる「増悪因子」であると考えられ、臨床像とも一致する。

一方で、COPD誘導刺激が長期間(6ヵ月以上)に及ぶ場合、肺の老化マーカーの上昇や組織破壊は確認できるものの、若齢マウスとの差は確認できなかったとする報告も存在する^{17, 18)}。これらの一見矛盾する結果は、長期にわたる強力なCOPD誘導が若齢マウスにおいても加齢マウスと同程度の大きなダメージを肺に蓄積させ、相対的に加齢という要因が目立たなくなっている可能性も考えられる。しかし、COPDは約20年にわたる喫煙習慣の末に発症す

図 β-galactosidase陽性細胞率



ることを踏まえると、患者は上記報告との似た状態とも考えられ、加齢と喫煙の病態への寄与割合については、依然として議論の余地があると考えられる。

われわれはこれまでに、若齢個体のエラストーゼCOPD誘導モデルにおいて、人参養栄湯が肺胞構造の破壊を抑制することを確認している¹⁹⁾。これは人参養栄湯が、加齢に依存しないケースでもCOPD様の炎症性肺胞崩壊を軽減する可能性を示している。

また、前回の本誌での報告では、老化促進マウスの加齢に伴う自然肺胞崩壊と、自然老化マウスに対するCOPD誘導による肺胞破壊モデルの両方とも、人参養栄湯が抑制することを報告しており、さらに老化促進マウスでは、肺の老化指標であるテロメア短縮も低減させていた²⁰⁾。

本研究では、自然老化と炎症老化を併存するモデルで、人参養栄湯が肺の老化指標である β -gal活性を低減させることを示した。なお、テロメアではなく組織 β -galを使うのは、本モデルでは肺に炎症細胞が多く浸潤し、そのテロメア活性が検出されるためである。これらの結果は、臨床のCOPD病態により近い、自然老化と炎症性老化を組み合わせた二つの異なる肺老化プロセスにおいても、人参養栄湯が対応できる可能性を示した。

人参養栄湯が肺老化を抑制したメカニズムについては、まだ明確にはできていない。前回の報告では、自然老化マ

ウスに対するCOPD誘導において、人参養栄湯がIL-6などの炎症因子を抑制していることを示した。これは、老化細胞の蓄積によるSASPを抑制した可能性とともに、COPD誘導による肺局所の炎症を抑制することで炎症性に老化細胞が増加するのを防いだ可能性が考えられる^{20,21)}。

また近年、老化モデル(自然老化、Klotho欠損、SAMP8)に人参養栄湯を投与で、酸化ストレスや老化指標、慢性炎症の改善が報告されている。具体的には、筋肉における酸化ストレスの抑制およびテロメア長の延伸、炎症性サイトカイン抑制によるSASPの緩和^{22, 23)}、さらに脳皮質や血中の酸化ストレス抑制も確認されている。さらに、PGC-1 α の発現を亢進させ、ミトコンドリア機能を改善することで細胞のエネルギー代謝を改善することも報告されており²⁴⁾、これらの作用が肺にも及び、老化細胞の蓄積を緩和し、組織の恒常性維持および再生能力の回復に寄与した可能性がある。

今後の研究では、人参養栄湯が具体的にどのような分子メカニズムで老化細胞の蓄積を抑制するのか、あるいは老化細胞を除去する能力があるのかを、詳細に解明することが求められ、これらは、加齢性疾患としてのCOPDに対する新たな治療戦略の確立に、重要な知見となると考えられる。

【参考文献】

- 1) Fukuchi Y, et al.: COPD in Japan: the Nippon COPD Epidemiology study. *Respirology*. 2004 Nov;9(4):458-65. doi: 10.1111/j.1440-1843.2004.00637.x. PMID: 15612956.
- 2) 厚生労働省「令和5年 国民健康・栄養調査」第3部 生活習慣調査の結果 p161~p196 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/kenkou/eiyou/r5-houkoku_00001.html
- 3) Verbeken EK, et al.: Comparison with normal and emphysematous lungs. 1. Structural aspects. *Chest*. 1992 Mar;101(3):793-9. doi: 10.1378/chest.101.3.793. PMID: 1541148.
- 4) Schulte H, et al.: Age-Related Structural and Functional Changes in the Mouse Lung. *Front Physiol*. 2019 Dec 4;10:1466. doi: 10.3389/fphys.2019.01466. PMID: 31866873; PMCID: PMC6904284.
- 5) Tsuboi T, et al.: Alveolar cell senescence in patients with pulmonary emphysema. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Oct 15;174(8):886-93. doi: 10.1164/rccm.200509-1374OC. Epub 2006 Aug 3. PMID: 16888288.
- 6) Subedi S, et al.: Cellular senescence in chronic obstructive pulmonary disease: Molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Ageing Res Rev*. 2025 Aug;110:102813. doi: 10.1016/j.arr.2025.102813. Epub 2025 Jun 24. PMID: 40571131.
- 7) John-Schuster G, et al.: Inflammation increases susceptibility to cigarette smoke-induced COPD. *Oncotarget*. 2016 May 24;7(21):30068-83. doi: 10.18632/oncotarget.4027. PMID: 26284585; PMCID: PMC5058664.
- 8) Pierre A, et al.: Impact of aging on inflammatory and immune responses during elastin peptide-induced murine emphysema. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2019 Apr 1;316(4):L608-L620. doi: 10.1152/ajplung.00402.2018. Epub 2019 Jan 24. PMID: 30675803.
- 9) Kaur G, et al.: Clearance of senescent cells reverts the cigarette smoke-induced lung senescence and airspace enlargement in p16-3MR mice. *Aging Cell*. 2023 Jul;22(7):e13850. doi: 10.1111/acel.13850. Epub 2023 Apr 20. PMID: 37078230; PMCID: PMC10352560.
- 10) 三河隆太: マウスにおける老化細胞除去は肺気腫関連疾患を改善する. *基礎老化研*41; 45-48, 2017
- 11) Egashira T, et al.: Studies on pharmacological properties of Ninjin-yoei-to. Report 1. Free radical scavenging ability of Ninjin-yoei-to. *J Trad Med*, 16 (1999), pp. 108-115
- 12) Egashira T, et al.: TChanges of materials that scavenge 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals in plasma by per-oral administration of Kambo medicine, Ninjin-yoei-to in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2003 Mar;55(3):367-71. doi: 10.1211/002235702711. PMID: 12724043.
- 13) Sugihara T, et al.: Ninjin-yoei-to suppressed the onset of arthritis, pain, and muscle atrophy in rheumatoid arthritis model mice. *Front Pharmacol*. 2022 Dec 19;13:974380. doi: 10.3389/fphar.2022.974380. PMID: 36601050; PMCID: PMC9806168.
- 14) Murata K, et al.: Ninjin-yoei-to ameliorated cigarette smoke extract-induced apoptosis and inflammation through JNK signaling inhibition in human lung fibroblasts. *BMC Complement Med Ther*. 2022 Mar 31;22(1):96. doi: 10.1186/s12906-022-03574-5. PMID: 35361188; PMCID: PMC8973640.
- 15) 武田宏司: *In vitro*における人参養栄湯のミトコンドリア量に対する作用. *薬理と治療* 46: 1347 - 1352, 2018
- 16) Nyunoya T, et al.: Cigarette smoke induces cellular senescence. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006 Dec;35(6):681-8. doi: 10.1165/rcmb.2006-0169OC. Epub 2006 Jul 13. PMID: 16840774; PMCID: PMC2643295.
- 17) Rashid K, et al.: Lung cellular senescence is independent of aging in a mouse model of COPD/emphysema. *Sci Rep*. 2018 Jun 13;8(1):9023. doi: 10.1038/s41598-018-27209-3. PMID: 29899396; PMCID: PMC5998122.
- 18) Zhou S, et al.: Aging does not enhance experimental cigarette smoke-induced COPD in the mouse. *PLoS One*. 2013 Aug 2;8(8):e71410. doi: 10.1371/journal.pone.0071410. PMID: 23936505; PMCID: PMC3732225.
- 19) 嶋田裕己 ほか: COPDモデルマウスに対する人参養栄湯の有効性検討. 第42回回漢医薬学会学術大会要旨集 P1-1, 2025
- 20) 下山泰輝 ほか: 気腫性病変モデルマウスの肺気腫および肺老化に対する人参養栄湯の作用. *phl漢方* 94: 30-33, 2023
- 21) Shimoyama T, et al.: *Ninjin-yoei-to* ameliorated PPE-induced pulmonary emphysema and anxiety/depressive-like behavior in aged C57BL/6J mice. *Front Pharmacol*. 2022 Oct 10;13:970697. doi: 10.3389/fphar.2022.970697. PMID: 36299904; PMCID: PMC9589273.
- 22) Amitani H, et al.: Impact of Ninjin-yoei-to on frailty and short life in klotho-hypomorphic (kl/kl) mice. *Front Pharmacol*. 2022 Oct 24;13:973897. doi: 10.3389/fphar.2022.973897. PMID: 36353482; PMCID: PMC9637981.
- 23) Otsuka S, et al.: Ninjin-yoei-to reduces fatigue-like conditions by alleviating inflammation of the brain and skeletal muscles in aging mice. *PLoS One*. 2024 May 20;19(5):e0303833. doi: 10.1371/journal.pone.0303833. PMID: 38768175; PMCID: PMC11104581.
- 24) Miyamoto A, et al.: Ninjin-yoei-to Ameliorates Skeletal Muscle Complications in COPD Model Mice by Upregulating Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Coactivator-1 α Expression. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2020 Nov 27;15:3063-3077. doi: 10.2147/COPD.S280401. PMID: 33273811; PMCID: PMC7708308.