

小青竜湯 ①

名古屋市立大学大学院 薬学研究科 准教授 牧野 利明

本連載を開始するにあたって

漢方処方とは、基本的には漢方医学における診断方法である「証」に基づいて使用することが原則である。しかし、漢方処方「証」は、現代科学の立場からは非常にあいまいで抽象的であることから、これまで多くの研究者たちがそれを科学的解明する試みを行ってきた。すなわち、漢方処方のクスリとしての作用のうち漢方医学(伝統医学)的な側面に相当する「薬能」を、現代科学における「薬理」に翻訳する試みである。もし、漢方処方の生体への作用をすべて「薬理」で説明することが出来るようになれば、もはや漢方医学における「証」は不要となり、とくに漢方医学を学ばなくても漢方処方を使用できることになる。また、その一部でも「薬理」で説明することが出来れば、漢方処方が生体に対してどのようなメカニズムにより作用しているのかは格段に理解しやすくなる。

本連載では、掲載時までには明らかになっている漢方処方の薬理に関する情報をまとめ、レビューしていくものである。そのような試みは、かつては臨床情報センター社が発行している『漢方医学』誌において、現日本薬科大学学長の丁宗鐵先生、現昭和大学薬学部教授の鳥居塚和生先生が1995年から連載されていた「方剤薬理シリーズ」があり、その内容をまとめた『モノグラフ漢方方剤の薬効・薬理』が2009年に医歯薬出版社から発行されている¹⁾。本連載では、両先生がまとめられた医薬品情報に、さらに新しいものを追加し、この間の学問の進歩を含めた形で現場の先生方に情報提供していきたいと考えている。

漢方薬の薬理に関する情報を医療へ応用する時に注意しなければならないのは、どのような研究方法によりその情報が得られたか正しく把握することである。臨床薬理研究においては倫理委員会等で計画段階から審査を受けるため、臨床に適用出来ない成果は考えにくい。基礎薬理実験においては、実験動物に対する漢方処方の投与量と投与経路が、臨床と比較してあまりにもかけ離れていて、そのままでは臨床には下ろせないものも多い。実験動物では薬物の代謝・排泄速度がヒトよりも早い。たいていの薬物の場合(西洋薬の場合でも)、臨床使用量の10倍程度を投与してようやくヒトと同等の薬理作用が現れるが、例えばヒトの100倍量を実験動物に投与して得られた「薬理」、消化管膜をそのままの状態では透過しない高分子化合物や、消化管内で代謝されアグリコンとなってから吸収される配糖体を含む漢方処方を、培養細胞や摘出臓器に対して直接投与する*in vitro*試験(いわゆる「ふりかけ実験」)による「薬理」、日本では認められていないエタノールや超臨界CO₂で生薬を抽出し、水で煎じたものと比較して

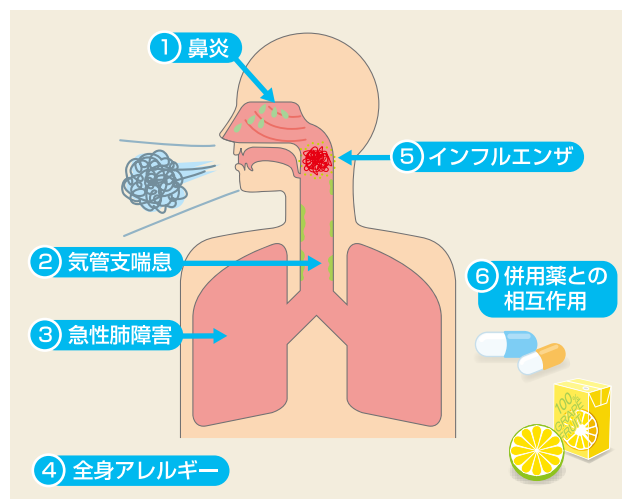
脂溶性の高い化合物を多く含む状態のものを用いて得られた「薬理」などは、とても臨床に適用出来るものではない。そこで、本連載で紹介する基礎薬理については、日本での生薬の利用方法と同じもの(散剤、丸剤以外は生薬の熱水抽出エキスのみ)を、実験動物に対して体重換算でヒト常用量の25倍以下の量を経口投与して得られた結果についてのみ、*in vitro*試験については消化管上皮細胞を用いたものなど臨床において実際に起こりうるケースのみを紹介する。また、レビューするに当たり、論文に述べられている結果、結論だけでなく、実験方法(とくに薬物の由来と投与量、投与経路)も記載することで、読者自身でその内容についてどこまでが臨床へ応用出来るかを考えられるような資料としたい。

はじめに(図1)

小青竜湯は、適応に気管支喘息、鼻炎、アレルギー性鼻炎、感冒が含まれており、呼吸器系疾患に使用されることの多い処方である。臨床試験でも、通年性鼻アレルギー患者に対して小青竜湯の改善作用が認められた二重盲検ランダム化比較試験²⁾、気管支炎患者に対する小青竜湯の改善が認められた二重盲検ランダム化比較試験³⁾など、その有用性に関するエビデンスが集積してきている。

丁による「方剤薬理シリーズ」では1995年2月に小青竜湯が取り上げられ⁴⁾、その後の『モノグラフ漢方方剤の薬効・薬理』¹⁾でもそれ以降の情報は追加されていない。そこで本稿では、それ以降に報告された小青竜湯の薬理作用発現メカニズムについて、現在までに明らかになっていることをまとめていく。

図1 小青竜湯について研究された薬理テーマ



1. アレルギー性鼻炎モデル

Sakaguchiらは、ジニトロフェニル化ブタ回虫抗原 (DNP-As) を用いたモルモットアレルギー性鼻炎モデルにおける小青竜湯の作用を報告している⁵⁾。水酸化アルミニウムゲルに吸着させたDNP-Asをモルモット腹腔内に2週間ごとに4回注射して感作させ、さらにその2週間後にエアロゾル化したDNP-Asを鼻腔から吸入させた。医療用小青竜湯エキス製剤の原末 (以下、小青竜湯エキス原末) を1.0g/kg (ヒト常用量の約10倍量)、抗原吸入の1時間前に経口投与した。DNP-As抗原の吸入により、鼻掻き回数の増加、鼻腔粘膜の血管透過の増加、鼻腔体積の減少、鼻腔粘膜への好酸球の浸潤が誘導されたが、小青竜湯の投与によりそれぞれ有意に抑制された。

Ikedaらは、卵白アルブミン (OVA) をマウスに感作させることによるアレルギー性鼻炎症状に対する小青竜湯の作用を報告している⁶⁾。酸化アルミニウムゲルに吸着させたOVAを、実験開始当日、7日目、14日目の計3回、マウスに腹腔内投与し、21日目と28日目にはマウスの鼻腔内に投与して、アレルギー性鼻炎モデルとした。小青竜湯エキス原末は、0.5gおよび1.0g/kg/日 (ヒト常用量の約5倍および10倍量) の投与量で、28日間、1日1回、経口投与した。最終OVA投与後10分間のクシャミの回数は、OVA非投与の正常群で5回が、OVA処置したコントロール群では36回に増加し、小青竜湯1.0g/kg投与群では23回まで有意に減少していた。血液中の全IgEおよびOVA特異的IgEの濃度は、小青竜湯投与により用量依存的に有意に減少していた。実験後のマウスから脾臓細胞を摘出し、OVAと共に培養すると、コントロール群マウスからの脾臓細胞では正常群マウスと比較して培地中のインターロイキン-4 (IL-4) 濃度が有意に増加していたが、小青竜湯投与群からの脾臓細胞では用量依存的に抑制されていた。培地中のインターフェロン- γ (IFN- γ) の濃度は、各群で差は認められなかった。脾臓細胞に含まれるリンパ球の組成をフローサイトメトリーで解析したところ、コントロール群ではCD86+MHC II +細胞とCD28+CD40+T細胞の割合が有意

に増加していたが、小青竜湯投与群ではそれらが抑制されていた。以上のことから、小青竜湯は抗原提示CD4+T細胞と抗原間の相互作用が起こる段階で、Th2反応を抑制することにより、抗アレルギー作用を示したと推測された。

Dasらは、ポリウレタンの原料で職業性喘息の起因物質であるトルエン2,4-ジイソシアネート (TDI) をラットに作用させて発症させたアレルギー性鼻炎モデルに対する小青竜湯の作用を報告している⁷⁾。TDIをラットの両鼻腔に1日1回5日間連続滴下して感作させ、2日間の休薬後、さらに5日連続してTDIを滴下して感作を増強させた。その9日後にTDIを再び作用させ、鼻アレルギーモデルとした。このモデルに対して、小青竜湯エキス原末を0.6g/匹/日 (ヒト常用量の約24倍量) の投与量で、TDI処置を開始してから21日間、1日1回、TDI処置の1時間前に経口投与した。最終TDI処置直後10分間のクシャミ回数を評価したところ、TDI無処置の正常群では0回、TDA処置したコントロール群では29回であったが、小青竜湯投与群では7.7回と有意に抑制されていた。鼻腔粘膜からmRNAを調製し、リアルタイムPCR法により各種mRNA発現量を定量したところ、TDI処置群で増加していたヒスタミンH₁受容体 (H1R)、ヒスチジンデカルボキシラーゼ (HDC)、IL-4、IL-5の各mRNA発現量が、小青竜湯投与群で有意に減少していた。一方、IL-13mRNA発現量は不変であった。

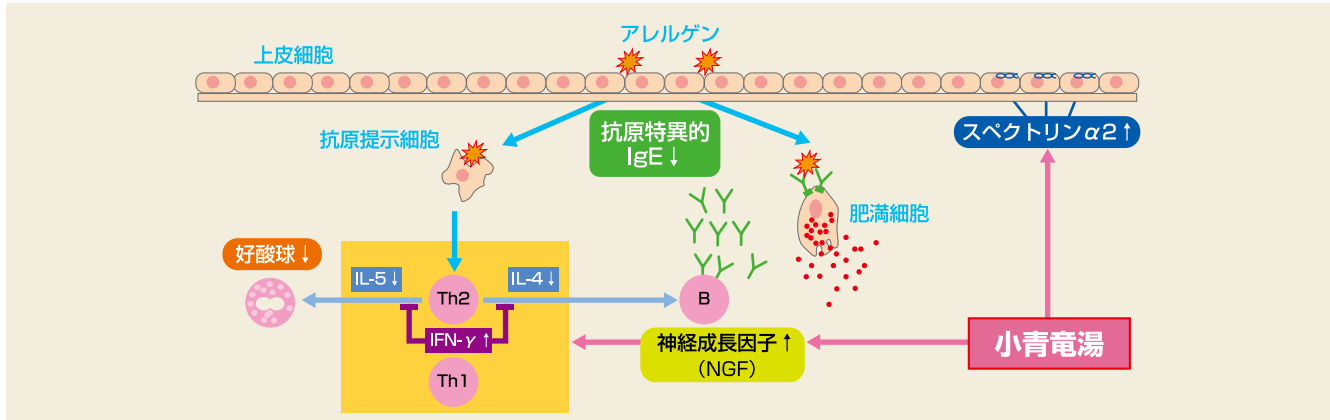
また、時田らは、同モデルに対する小青竜湯の作用をさらに実験した⁸⁾。鼻アレルギーモデルラットに小青竜湯エキス原末を1%、3%の濃度 (ヒト常用量の約10倍、30倍に相当) で混合した飼料を用いて飼育したとき、増加した鼻洗浄液中のサブスタンスP (SP)、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP)、神経成長因子 (NGF) が、小青竜湯の投与により有意に減少していた、と報告している。このことから、小青竜湯の鼻アレルギー抑制作用の機序として、鼻粘膜におけるヒスタミン生合成の抑制、サイトカインネットワークの抑制と神経ペプチドの関与が示唆された。



表 各種モデル動物に対する小青竜湯の投与試験結果(まとめ)

	著者	使用動物	感作物質	小青竜湯エキス投与量 (一番高用量のみ記載)	小青竜湯投与による結果 (一部抜粋)
アレルギー性鼻炎モデル	Sakaguchi ⁵⁾	Hartleyモルモット(♂) (体重200~300g, n=8~13)	ジニトロフェニル化ブタ回虫抗原 (DNP-As)	1.0 g/kg 単回経口投与	鼻掻き回数(↓) 鼻腔粘膜の血管透過(↓) 鼻腔体積(↑) 鼻腔粘膜への好酸球浸潤(↓)
	Ikeda ⁶⁾	Balb/cマウス(♀) (6週齢, n=3~5)	卵白アルブミン (OVA)	1.0 g/kg/day 連続経口投与 (28日間)	クシャミ回数(↓) 血清中 全IgE濃度(↓) OVA特異的IgE濃度(↓) 脾臓細胞からのIL-4産生(↓) Th2反応(↓)
	Das ⁷⁾	BNラット(♂) (6週齢, n=4)	トルエン2,4-ジイソシアネート (TDI)	0.6 g/匹/day 連続経口投与 (21日間)	クシャミ回数(↓) 鼻腔粘膜mRNA (H1R, HDC, IL-4, IL-5) 発現量(↓)
	時田 ⁸⁾	SDラット(♂) (6週齢, n=7~8)	トルエン2,4-ジイソシアネート (TDI)	3% 混合飼料投与 (22日間)	鼻洗浄液中神経ペプチド (SP, CGRP, NGF) 濃度(↓)
気管支喘息モデル	Nagai ⁹⁾	Balb/cマウス(♀) (6週齢, n=7~10)	卵白アルブミン (OVA)	0.5 g/kg 連続経口投与 (6日間)	BALF中 OVA特異的IgE濃度(↓) IL-4濃度(↓)、IFN- γ 濃度(↑) NGF濃度(↑↑) 肺組織中 IL-4、IL-5濃度(↓) IFN- γ 濃度(↑)、NGF濃度(↑↑)
	Nagai ¹⁰⁾	Balb/cマウス(♀) (6週齢, n=4~7)	卵白アルブミン (OVA)	0.5 g/kg 連続経口投与 (6日間)	肺組織中 好酸球浸潤(↓) 杯細胞増殖(↓) 粘液分泌(↓) スベクトリン α 2発現(↑)

図2 気道の炎症に対する小青竜湯の作用(仮説)



参考文献¹⁰⁾より一部改変引用

2. 気管支喘息モデル

Nagaiらは、OVAを用いたマウス気管支喘息モデルに対する小青竜湯の作用を報告している⁹⁾。酸化アルミニウムゲルに吸着させたOVAをマウスに実験開始当日、5日目に腹腔内に投与し、12日目にエアロゾル化したOVAを鼻腔内から吸入させることにより気管支喘息モデルとした。生薬を熱水抽出することにより得られた小青竜湯エキスは、0.5g/kg/日(ヒト常用量の約5倍量)の投与量でOVA吸入投与から6日間、1日1回経口投与した。OVA吸入投与から7日目にマウスを屠殺し、気管支肺胞洗浄液(BALF)、血清、肺組織を得た。BALF中のOVA特異的IgE濃度、IL-4濃度、神経成長因子(NGF)濃度は、正常群と比較してOVA処置群には有意に高く、またIFN- γ の濃度は有意に低い値を示した。小青竜湯投与群におけるこれらの値は、OVA特異的IgE濃度、IL-4濃度、IFN- γ 濃度では、有意に回復していたが、NGF濃度はさらに有意に高い値を示した。血清中のOVA特異的IgE濃度は、OVA処置により高値を示したが、小青竜湯投与群で有意な抑制は認められなかった。また肺組織に含まれるリンパ球を密度勾配遠心法により分離、CD4⁺T細胞を磁気ビーズ法により単離し、培養したところ、正常群と比較してOVA処置群から調製した細胞では、培養液中に放出されたIL-4、IL-5、NGFの量は増加し、IFN- γ の量は減少していた。小青竜湯投与群から調製した細胞では、IL-4、IL-5、IFN- γ の値は有意に回復していたが、NGFの値はさらに有意な高値を示した。OVA吸入投与の3時間前、1、3、6日後に抗NGF抗体をマウスに鼻腔内投与した時、小青竜湯投与により見られたBALF中OVA特異的IgE濃度減少、IL-4濃度減少、IFN- γ 濃度増加は、すべて失われた。以上のことから、小青竜湯のアレルギー性気道炎症抑制作用

には、肺においてTh2側に傾いたTh1/Th2バランスを元へ戻すだけでなく、NGFの誘導による肺組織の修復促進が強く関与していることが明らかとなった。

さらにNagaiらは、本モデルマウスにおける小青竜湯の作用機序をプロテオミクスを行ってさらなる検討を行っている¹⁰⁾。2004年の論文⁹⁾と同じ処置を施したマウスで、OVA吸入投与から6日目に、メタコリンを吸入させてプレシスモグラフィにより気道抵抗値を測定したところ、OVA処置により増加した気道抵抗値が小青竜湯により有意に改善していた。7日目に屠殺し、BALF、血漿、肺組織を得た。肺組織病理所見では、OVA処置により好酸球の顕著な浸潤、杯細胞の異常増殖、粘液分泌過剰が認められたが、それらの所見は小青竜湯投与群では改善していた。血漿およびBALF中の好酸球数も、OVA処理により顕著に増加していたが、小青竜湯投与群では有意に改善していた。肺組織に含まれるタンパク質を二次元電気泳動により網羅的に解析したところ、正常マウスと比較してOVA処置により消失し、小青竜湯により回復するタンパク質を認め、質量分析によりスペクトリン $\alpha 2$ と同定した。スペクトリン $\alpha 2$ の肺組織における発現の変動は、ウェスタンブロット法および免疫染色においても確認された。本実験の陽性コントロールとして使用したプレドニゾロンでは、好酸球数の増加に対しては有効性を示したが、病態モデルで見られたスペクトリン $\alpha 2$ の発現低下は回復させなかった。スペクトリンは、細胞膜の構造を保つ細胞骨格を構成する主要なタンパク質であり、その発現の低下は炎症に伴う組織障害の結果と推定され、小青竜湯はステロイド抵抗性の気管支喘息に対しても有効である可能性が示唆された(図2)。

気管支喘息モデルを用いた小青竜湯の実験薬理研究はまだ他もあるため、次回に継続して紹介する。

【参考文献】

- 1) 丁宗鑑, 鳥居塚和生: モノグラフ漢方方剤の薬効・薬理. 医歯薬出版, 2009.
- 2) 馬場駿吉 et al.: 小青竜湯の通年性アレルギーに対する効果 二重盲検比較試験, 耳鼻咽喉科臨床 88: 389-405, 1995.
- 3) 宮本昭正 et al.: TJ-19 ツムラ小青竜湯の気管支炎に対するPlacebo対照二重盲検群間比較試験, 臨床医薬 17(8): 1189-1214, 2001.
- 4) 丁宗鑑: 方剤薬理シリーズ(2) 小青竜湯, 漢方医学 19(2): 57-62, 1995.
- 5) Sakaguchi, M et al.: Effects of Sho-seiryu-to on experimental allergic rhinitis in guinea pigs, Methods Find Exp Clin Pharmacol, 21(4): 303-308, 1999.
- 6) Ikeda, Y et al.: Possible involvement of suppression of Th2 differentiation in the anti-allergic effect of Sho-seiryu-to in mice, Jap J Pharmacology 90: 328-336, 2002.
- 7) Das, AK et al.: Sho-seiryu-to suppresses histamine signaling at the transcriptional level in TDI-sensitized nasal allergy model rats, Allergy Int 58: 81-88, 2009.
- 8) 時田江里香 et al.: アレルギー性鼻炎モデルラットの鼻洗浄液中SP, CGRP, NGFに対する小青竜湯の効果, 薬理と治療 38(10): 891-898, 2010.
- 9) Nagai, T et al.: Anti-allergic activity of a Kambo(Japanese herbal) medicine "Sho-seiryu-to(Xiao-Qing-Long-Tang)" on airway inflammation in a mouse model, Int Immunopharmacol 4: 1353-1365, 2004.
- 10) Nagai, T et al.: Proteomic Analysis of Anti-inflammatory Effects of a Kambo(Japanese Herbal) Medicine "Shoseiryuto(Xiao-Qing-Long-Tang)" on Airway Inflammation in a Mouse Model, Evid Based Complement Alternat Med 2011: 604196, 2011.