

小青竜湯 2

名古屋市立大学大学院 薬学研究科 准教授 牧野 利明

はじめに

前回(本誌 No.41掲載)に引き続き、小青竜湯の薬理に関する論文で『モノグラフ 漢方方剤の薬効・薬理』¹⁾に記載された分以降のものを紹介していく。

2. 気管支喘息モデル(続き)

Kaoらは、ダニ抗原を用いたマウス気管支喘息モデルに対する小青竜湯の抑制作用を報告している²⁾。まずは、正常マウスに刻み生薬から調製した小青竜湯熱水抽出エキスを1.0g/kg(ヒト常用量の約10倍量)の投与量で投与したところ、24時間後の気管支肺胞洗浄液(BALF)中マクロファージ数、リンパ球数、好中球数が顕著に増加していた。次に、マウスにダニ抗原を皮下投与することで感作させ、その14日後に麻酔下で気道内に直接ダニ抗原を注入することでアレルギー性喘息様症状を惹起させた。小青竜湯投与群は3群とし、いずれも小青竜湯1.0g/kgを、①気道内ダニ抗原注入(惹起)1時間前の1回のみ投与した群、②惹起24時間後に1回のみ投与した群、③感作から惹起48時間前まで2日に1回、計6回投与した群を設定した。コントロール群では、BALF中好酸球数は惹起後2日後に増加した。小青竜湯を惹起前に投与した群(①、③)では好酸球数はコントロール群と比較して有意に低い値を示したが、小青竜湯を惹起後に投与した群(②)には差は認めなかった。このことから、小青竜湯は抗原侵入後の好酸球の組織への浸潤を予防することにより、抗アレルギー作用を示すことが推測された。

3. 肺障害モデル

Yangらは、オレイン酸により惹起したモルモットでの急性肺障害を小青竜湯が保護することを報告している³⁾。麻酔下のモルモットにオレイン酸を静脈内投与した。医療用小青竜湯エキス製剤はオレイン酸投与前の2週間、1日2回0.75g/kgずつ経口投与(ヒト常用量の約10倍)した。オレイン酸静注10分後、静脈血の酸素分圧は顕著に低下したが、小青竜湯投与では認められなかった。オレイン酸静注1分前に、エバンスブルーを静注し、気管支における血管透過性を測定したところ、小青竜湯投与群における有意な減少が認められた。オレイン酸静注により、BALF中の乳酸脱水素酵素(LDH)活性、チオバルビツール酸反応性物質(TBARS)、トロンボキサンB₂(TXB₂)の濃度が増加し、グルタチオン/酸化型グルタチオン(GSH/GSSG)比は減少していたが、小青竜湯投与によりそれ

ぞれ有意に回復していた。以上のことから、小青竜湯は肺障害に伴う低酸素症や血管透過性亢進を、少なくとも抗酸化活性を介して改善する可能性が示唆された。

4. 全身におけるアレルギー反応モデル

Sakaguchiらは、ラット受動皮膚アナフィラキシー(PCA)反応に対する小青竜湯の抑制作用を報告している⁴⁾。ラット抗卵白アルブミン(OVA)血清を正常ラットに皮内投与し、その48時間後にOVAを静脈内投与することによるPCA反応と、ヒスタミンを皮内投与することによる皮膚血管透過性試験を評価した。医療用小青竜湯エキス製剤(原末か顆粒剤かの記載なし)を1.0g/kg(ヒト常用量に対して原末なら約10倍、顆粒剤なら5倍量)は、OVA静脈内投与の30分前、ヒスタミン皮内投与の1時間前に、それぞれ単回経口投与したところ、PCA反応とヒスタミン誘発の色素漏出範囲の有意な抑制が認められた。小青竜湯を7日間連続投与した後、ヒスタミン受容体拮抗薬であるメピラミンの放射性同位体を投与してその大脳皮質におけるH₁受容体の結合能を測定したところ、ケトチフェンでは抑制がみられたが小青竜湯ではみられなかった。以上のことから、小青竜湯はヒスタミンによる血管透過性反応を抑制する作用があり、また脳でのヒスタミン(H₁)受容体を阻害しないため、催眠作用を示さない抗アレルギー薬として有用であるとされた。

Shimadaらは、小青竜湯のマウスにおける抗アレルギー作用が、腸内常在菌の1つである*Enterococcus faecalis*の抽出物と同時に投与することで増強されることを報告している⁵⁾。マウスにスギ花粉抗原を実験開始0、1、6、8、14日目に皮下投与することで感作し、20日目にスギ花粉抗原を腹腔内投与することでアレルギー反応を惹起させた。抗原を投与する21日間、医療用小青竜湯エキス製剤(原末か顆粒剤かの記載なし)を単独で3または30mg/匹/日(ヒト常用量と比較して原末なら同等または約10倍量、顆粒剤なら半量または約5倍量)、あるいは腸内細菌抽出物と同時に、1日1回経口投与した。抗原惹起後に誘導される好酸球の浸潤は、小青竜湯30mg/匹/日単独投与で有意に減少したが、3mg/匹/日では変化は認められなかった。しかし、小青竜湯3mg/匹/日と腸内細菌抽出物を同時に経口投与すると、好酸球の浸潤は有意に抑制され、両者の併用により作用増強が認められた。このことから、小青竜湯の抗アレルギー作用、抗炎症作用が発揮するためには、腸内細菌叢の状態におおいに影響を受けることが示唆された。



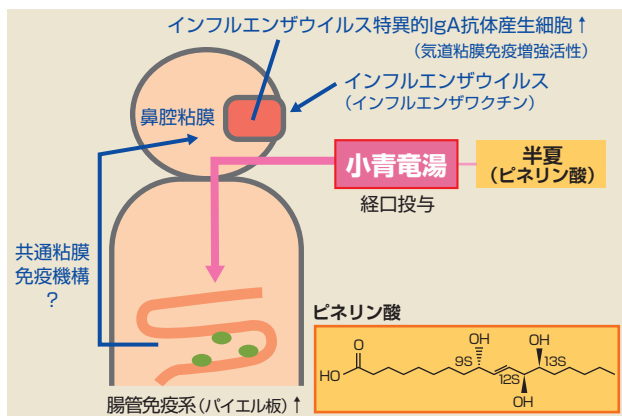
5. インフルエンザウイルス (Flu) 感染モデル

Nagaiらは、小青竜湯の抗インフルエンザウイルス作用について報告している。1994年の論文⁶⁾では、マウスにFluA (H1N1)を鼻腔内に滴下することにより感染させ、Flu投与5日目の血清、鼻洗浄液、BALFを採取し、Flu感染モデルを評価している。小青竜湯は生薬を熱水抽出することにより得たエキスを使用し、Flu投与の7日前から4日後まで2.0g/kg/日(ヒト常用量の約20倍量)で1日1回経口投与した。その結果、小青竜湯の投与により鼻洗浄液中のFlu価が有意に減少し、BALF中のFlu価も減少傾向が認められた。また、抗Flu-IgA抗体価は、鼻洗浄液およびBALF中でそれぞれ有意に増加していた。これとは別に、マウスにFluHAワクチンを鼻腔内に投与し、小青竜湯をその7日前から13日後まで、同用量で1日1回経口投与したとき、血清中の抗HA抗体価は接種13日後で小青竜湯の投与群で有意な増加が認められた。以上のことから、小青竜湯はアジュバントとして作用し、粘膜免疫系を賦活させることにより、インフルエンザの予防効果を示すと推測された。

1996年の論文⁷⁾では、マウスにFluA (H1N1)、FluA (H3N2)、FluBをそれぞれ鼻腔内に滴下することにより感染させ、小青竜湯は1.0g/kg/日(ヒト常用量の約10倍)に減らし、同様のスケジュールで投与している。その結果、いずれのウイルス型においても、小青竜湯投与群でBALF中のFlu価が有意に減少していた。FluA (H1N1)をマウスに感染させた2時間後より4日後まで1日1回小青竜湯を投与した場合には、この作用は認められなかったが、FluA (H1N1)に感染させた14日後に別の垂型のFluA (H3N2)に感染させ、同様に小青竜湯を投与したときは、BALF中のFlu価は有意に減少した。FluHAワクチンをマウスの鼻腔内に投与し、小青竜湯をワクチン投与7日前から14日後まで投与したところ、鼻洗浄液中の抗Flu-IgA抗体価、BALFと血清中の抗Flu-IgG抗体価は有意に増加していた。このことから、小青竜湯自身のアジュバント活性は抗原の種類には無関係であり、感染歴のある場合にはインフルエンザの治療効果があること、血清だけでなく粘膜免疫系にも働いて局所でのIgA抗体産生を増強させる作用をもつことが示唆された。

1998年の論文⁸⁾では、小青竜湯と腸管免疫系との関わりについて報告している。マウスにFluA (H1N1)、小青竜湯を前報⁷⁾と同用量・同様のスケジュールで作用させた。その後、マウス

図 小青竜湯による気道粘膜免疫系の調節



編 集 行 編 著 : 北里大学農医連携学術叢書 第2号 代替医療と代替農業の連携を求めて、北里大学学長室 : 31, 2007. より一部改変

鼻部よりリンパ球を単離したところ、小青竜湯投与群から調製したリンパ球では抗Flu-IgA抗体分泌細胞数が有意に増加していたが、活性化T細胞数には影響がなかった。一方、小腸パイエル板から調製したリンパ球では、コントロール群、小青竜湯投与群いずれにおいても抗Flu-IgA抗体分泌細胞は検出されなかったが、小青竜湯投与群で有意な活性化T細胞数の増加が認められた。小青竜湯はOVAで感作したアレルギーモデルにさらにFluを感染させたときは、OVAで感作していないときよりも強くBALFおよび鼻洗浄液中のFlu価を有意に減少させ、抗Flu-IgA抗体価を有意に増加させた。以上のことから、小青竜湯はあらかじめアレルギー性気管支炎のようなTh2が優位な状態では、ウイルスの粘膜への侵入により惹起される抗Flu-IgA抗体分泌をさらに亢進させ、免疫力を増強する作用があることが示唆された。

2002年の論文では、小青竜湯に含まれる有効成分の単離を試みている⁹⁾。前報⁷⁾と同様にFluHAワクチンをマウスに投与し、小青竜湯に含まれる個々の生薬から調製したエキスを経口投与したところ、半夏エキス(20mg/匹/日)を投与したマウスにおいて、血清中の抗Flu-IgG抗体価およびBALF中の抗Flu-IgA抗体価の増加が認められた。他の構成生薬では、乾姜エキス(40mg/匹/日)で血清中の抗Flu-IgG抗体価のわずかな増加傾向がみられた以外は、差は認められなかった。半夏エキスから有効成分の単離を試み、活性成分の1つとしてピネリン酸(図)を得た。ピネリン酸は、1μg/匹/日の経口投与で、半夏エキスと同様の作用が認められた。

6. 西洋薬との薬物動態学的相互作用

小青竜湯がカルバマゼピンの体内動態に影響しないことがラットおよびヒトで示されている^{10, 11)}。Ohnishiらは絶食したラットに医療用小青竜湯エキス製剤(顆粒剤)1.0g/kg(ヒト常用量の約10倍)を経口投与し、その3時間後にカルバマゼピンを経口投与し、血中濃度推移を測定したところ、小青竜湯投与の有無によって差がなかったことを示した¹⁰⁾。さらに、医療用小青竜湯エキス製剤を健康人に服用させ、小青竜湯服用4日目にカルバマゼピンを服用し、5日目より3日間血中濃度推移を測定したところ、カルバマゼピンの血中濃度に差はみられなかった¹¹⁾。以上のことから、小青竜湯はカルバマゼピンとは薬物動態学的な相互作用を示さないことが明らかになった。

さらにOhnishiらは、ラットにおける小青竜湯とフェニトイン間の薬物動態学的相互作用およびシトクロムP450 (CYP) 誘導作用についても評価している¹²⁾。ラットに医療用小青竜湯エキス製剤(顆粒剤)1.0g/kg(ヒト常用量の約10倍)を経口投与し、その最終投与1時間後にフェニトインを腹腔内投与し血中濃度推移を測定したところ、小青竜湯投与の有無によってフェニトインの血中濃度推移、肝重量および肝臓中のCYP含量において、差はみられなかった。

Makinoらは、*in vitro*試験において強いCYP3A4阻害作用が認められた五味子¹³⁾について、五味子を含有する小青竜湯が臨床においてもそのような作用を示すかを検討する目的で、小青竜湯のCYP3A4阻害作用をラット*in vivo*試験により検討した¹⁴⁾。まず、ラット肝臓ミクロソーム画分を用いた*in vitro*試験により、小青竜湯と陽性コントロールであるグレープフルーツ

ジュースのCYP3A阻害作用を検討した。生薬から熱水抽出して調製した小青竜湯エキスのCYP3A阻害活性の50%阻害濃度(IC₅₀)は52.6μg/mlであり、この値はグレープフルーツジュースの約7倍強かった。しかし、ラットにニフェジピンを投与したときの血中濃度推移では、グレープフルーツジュース(10ml/kg、ヒトで500mLのジュースを飲むときに相当)でニフェジピンを経口投与したときは、有意にニフェジピンの血中濃度が上昇したのに対して、小青竜湯(50mg/kg、ヒトが1日2回で服用するときの約1回量に相当)では有意な血中濃度の増加は認められなかった。このことから、*in vitro*試験によって得られた薬理試験の結果が*in vivo*試験では必ずしも発現しないことを示し、小青竜湯は臨床においてグレープフルーツジュースのよ

うなCYPを介する薬物相互作用は示さないことを予測した。

その後、Nakaoらは、健常人を用いて小青竜湯のCYP阻害作用をヒトで評価した¹⁵⁾。健常人ボランティアに医療用小青竜湯エキス製剤(顆粒剤)を常用量で7日間服用させ、投与後に標準的な基質となる尿中代謝物を検出することにより、CYP1A2、CYP2D6、CYP3A、キサンチンオキシダーゼ(XO)、N-アセチルトランスフェラーゼ2(NAT2)の活性を測定した。その結果、それらの酵素活性に小青竜湯は影響しないことが明らかになった。

以上のことから、ヒトが常用量で小青竜湯を使用する際には、併用される西洋薬との間に薬物動態学的な相互作用は示さないものと推測される。

表 各種モデルに対する小青竜湯の投与試験結果(まとめ)

	著者	使用動物	感作または惹起物質	小青竜湯投与量 (一番高用量のみ記載)	小青竜湯投与による結果 (一部抜粋)
気管支喘息モデル	Kaoら ²⁾	Balb/cマウス (6~8週齢, n=6)	なし	エキス1.0g/kg 単回経口投与	BALF中 マクロファージ数(↑) リンパ球数(↑) 好中球数(↑)
			ダニ	エキス1.0g/kg/日 単回または6回経口投与	惹起前の小青竜湯投与で BALF中 好酸球数(↓)
肺障害モデル	Yangら ³⁾	Hartleyモルモット(♂) (体重約600g, n=6)	オレイン酸	顆粒剤1.5g/kg/日 連続経口投与(14日間)	静脈血中 酸素分圧(↓) 気管支の血管透過性(↓) BALF中 LDH活性(↓) GSH/GSSG比(↑) TBARS濃度(↓) TXB ₂ 濃度(↓)
全身における アレルギー 反応モデル	Sakaguchiら ⁴⁾	Wistarラット(♂) (4週齢, n=6~10)	OVA	1.0g/kg/日* 単回または連続経口投与 (7日間)	PCA反応(↓) ヒスタミンによる皮膚血管透過性(↓) 大脳皮質におけるH ₁ 受容体阻害なし
	Shimadaら ⁵⁾	Balb/cマウス(♀) (3週齢, n=7)	スギ花粉	3または30mg/匹/日* 連続経口投与(21日間)	小青竜湯30mgにて好酸球の浸潤(↓) 小青竜湯3mgにて腸内細菌抽出物と 同時投与により好酸球の浸潤(↓)
インフルエンザ ウイルス感染 モデル	Nagaiら ⁶⁾	Balb/cマウス(♀) (7週齢, n=3~10)	FluA(H1N1)または FluHAワクチン	エキス2.0g/kg/日 連続経口投与 (11または20日間)	鼻洗浄液中 Flu価(↓) BALF・鼻洗浄液中 抗Flu-IgA抗体価(↑) 血清中 抗HA抗体価(↑)
	Nagaiら ⁷⁾	Balb/cマウス(♀) (7週~6か月齢, n=3~10)	FluA(H1N1)、 FluA(H3N2)、FluB またはFluHAワクチン	エキス1.0g/kg/日 連続経口投与 (4、7、11または21日間)	BALF中 Flu価(↓) 鼻洗浄液中 抗Flu-IgA抗体価(↑) BALF・血清中 抗Flu-IgG抗体価(↑)
	Nagaiら ⁸⁾	Balb/cマウス(♀) (n=3~7)	FluA(H1N1) OVA、FluA(H1N1)	エキス1.0g/kg/日 連続経口投与(4、12日間) エキス1.0g/kg/日 連続経口投与(12日間)	鼻部 抗Flu-IgA抗体分泌細胞数(↑) 小腸パイエル板 活性化T細胞数(↑) BALF・鼻洗浄液中 Flu価(↓) 抗Flu-IgA抗体価(↑)

	著者	使用動物、対象者	併用薬	小青竜湯投与量 (一番高用量のみ記載)	小青竜湯投与による結果 (一部抜粋)
西洋薬との 薬物動態学的 相互作用	Ohnishiら ¹⁰⁾	Wistarラット(♂) (9週齢, n=3~6)	カルバマゼピン	顆粒剤1.0g/kg 単回経口投与	カルバマゼピンの血中濃度に影響なし
	Ohnishiら ¹¹⁾	健常人 (男性4名)	カルバマゼピン	顆粒剤9.0g/ヒト/日 連続経口投与(7日間)	カルバマゼピンの血中濃度に影響なし
	Ohnishiら ¹²⁾	Wistarラット(♂) (9週齢, n=3~5)	フェニトイン	顆粒剤1.0g/kg 単回経口投与	フェニトインの血中濃度、肝重量、 肝臓中CYP含量に影響なし
	Makinoら ¹⁴⁾	Wistar/STラット(♂) (8週齢, n=6)	ニフェジピン	エキス50mg/kg 単回経口投与	ニフェジピンの血中濃度に影響なし
	Nakaoら ¹⁵⁾	健常人 (男性19名、女性18名)	なし	顆粒剤9.0g/ヒト/日 連続経口投与(7日間)	CYP1A2、CYP2D6、CYP3A、XO、 NAT2の酵素活性に影響なし

* エキスカ顆粒剤かの記載なし

【参考文献】

- 1) 丁宗鑑 ほか: モノグラフ 漢方方剤の薬効・薬理, 医歯薬出版, 2009.
- 2) Kao, ST et al.: The effect of Chinese herbal medicine, xiao-qing-long tang (XQLT), on allergen-induced bronchial inflammation in mite-sensitized mice, *Allergy* 55(12): 1127-1133, 2000.
- 3) Yang, CQ et al.: Protection afforded by a herbal medicine, Sho-seiryu-to (TJ-19), against oleic acid-induced acute lung injury in guinea-pigs, *J Pharm Pharmacol* 61(7): 925-932, 2009.
- 4) Sakaguchi, M et al.: Pharmacological characteristics of Sho-seiryu-to, an antiallergic Kampo medicine without effects on histamine H₁ receptors and muscarinic cholinergic system in the brain, *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 18(1): 41-47, 1996.
- 5) Shimada, T et al.: Enhancement of anti-allergic effects mediated by the Kampo medicine Shoseiryuto (Xiao-Qing-Long-Tang in Chinese) with lysed *Enterococcus faecalis* FK-23 in mice, *Asian Pac J Allergy Immunol* 28(1): 59-66, 2010.
- 6) Nagai, T et al.: *In vivo* anti-influenza virus activity of Kampo (Japanese herbal) medicine "Sho-seiryu-to" and its mode of action, *Int J Immunopharmacol* 16(8): 605-613, 1994.
- 7) Nagai, T et al.: *In vivo* anti-influenza virus activity of Kampo (Japanese herbal) medicine "Sho-seiryu-to"--effects on aged mice, against subtypes of a viruses and B virus, and therapeutic effect, *Immunopharmacol Immunotoxicol* 18(2): 193-208, 1996.
- 8) Nagai, T et al.: *In vivo* anti-influenza virus activity of Kampo (Japanese herbal) medicine "Sho-seiryu-to"--stimulation of mucosal immune system and effect on allergic pulmonary inflammation model mice, *Immunopharmacology and immunotoxicology* 20(2): 267-281, 1998.
- 9) Nagai, T et al.: Pinellia from the tuber of *Pinellia ternata* Breitenbach as an effective oral adjuvant for nasal influenza vaccine, *Int Immunopharmacol* 2(8): 1183-1193, 2002.
- 10) Ohnishi, N et al.: Studies on interactions between traditional herbal and Western medicines. I. Effects of Sho-seiryu-to on the pharmacokinetics of carbamazepine in rats, *Biol Pharm Bull* 22(5): 527-531, 1999.
- 11) Ohnishi, N et al.: Studies on interactions between traditional herbal and Western medicines. II. Lack of pharmacokinetic interaction between Sho-seiryu-to and carbamazepine in healthy volunteers, *Jpn J TDM* 16(4): 399-404, 1999.
- 12) Ohnishi, N et al.: Studies on interactions between traditional herbal and Western medicines. III. Effects of Sho-seiryu-to (Tin Chuan tang) on the pharmacokinetics of phenytoin in rats, *J Trad Med* 17(6): 229-235, 2000.
- 13) Iwata, H et al.: Identification and characterization of potent CYP3A4 inhibitors in schisandra fruit extract, *Drug Metab Dispos* 32(12): 1351-1358, 2004.
- 14) Makino, T et al.: Does a kampo medicine containing schisandra fruit affect pharmacokinetics of nifedipine like grapefruit juice?, *Biol Pharm Bull*, 29(10): 2065-2069, 2006.
- 15) Nakao, M et al.: The effect of Shoseiryuto, a traditional Japanese medicine, on cytochrome P450s, N-acetyltransferase 2 and xanthine oxidase, in extensive or intermediate metabolizers of CYP2D6, *Eur J Clin Pharmacol* 63(4): 345-353, 2007.