

潰瘍性大腸炎モデル

Endoら¹⁾は、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) で誘発した潰瘍性大腸炎モデルマウスにおける柴苓湯 (白朮配合) の作用を検討している。5%DSSを飲水として7日間投与したマウスに、著者らが所属する北里研究所で使用されている生薬配合量で熱水抽出し凍結乾燥粉末として調製した柴苓湯 (2.4g/kg) と小柴胡湯 (2.0g/kg)、五苓散 (1.3g/kg) 各エキス (それぞれヒト1日量の約20倍) を、DSS投与開始から1日1回7日間強制経口投与したのち、マウスを屠殺した。病態モデル群では、大腸の長さの短縮と大腸のミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性、インターロイキン (IL)-1 β 、インターフェロン (IFN)- γ 、IL-6量の増加を認めたが、柴苓湯投与群ではIL-6以外で有意な改善がみられた。大腸の長さの短縮と、大腸のMPO活性の改善については、小柴胡湯と五苓散の投与群では有意な改善は認められなかった。柴苓湯から黄芩を除いた処方では有意な改善が認められたが、柴胡を除いた処方では改善は認められなかった。以上のことから、潰瘍性大腸炎抑制作用は、柴苓湯の構成生薬では柴胡が重要な役割を果たしていることが推測された。

Watanabeら²⁾は、潰瘍性大腸炎モデルマウスに対する柴苓湯の作用を検討している。マウスの腹部を剃毛し、オキサゾロンのエタノール溶液を塗布して皮膚感作を行い、7日後に肛門から大腸内腔の4cmの部位にカニューレを挿入し、オキサゾロン溶液を注入した。医療用柴苓湯エキス製剤原末 (蒼朮配合、投与量不明) は、オキサゾロン注入の1時間前から1日1回3日間経口投与した。オキサゾロン注入の10日後にマウスを屠殺し、疾患活動性 (体重、便の性状、血便) と大腸の肉眼的所見により評価したところ、柴苓湯投与群においていずれも有意な改善が認められた。大腸中央部からmRNAを抽出し、サイトカインの発現量を測定したところ、柴苓湯投与群においてTh2サイトカインであるIL-4、IL-5、IL-10の有意な抑制とTh1サイトカインであるIFN- γ の有意な亢進が認められた。さらに網羅的遺伝子発現解析を行ったところ、Th2関連の免疫疾患の発症およ

び維持の調節に重要な役割を果たしている suppressor of cytokine signaling (SOCS)-3が検出され、オキサゾロン注入により亢進するSOCS-3 mRNA発現量は、柴苓湯の経口投与により有意に抑制された。以上のことから、柴苓湯はTh1側の免疫反応を活性化し、Th2側への分極化を抑制することによって、大腸粘膜における免疫系を調節し、潰瘍性大腸炎を予防することが明らかとなった。

腹膜線維症モデル

加藤ら³⁾は、腹膜透析時の合併症である被嚢性腹膜硬化症 (EPS) モデルに対する柴苓湯と抗血栓症薬 (選択的Xa因子阻害剤) であるフォンダパリヌクスの併用における有用性を報告している。ラットに4週間、グルコン酸クロルヘキシジン (CG) の腹腔内投与と、フォンダパリヌクスの皮下投与をそれぞれ1日1回行い、その間、医療用柴苓湯エキス製剤原末 (蒼朮配合) を500mg/kg/日 (ヒト1日量の約5倍) となるように飲水に溶解して投与した。正常群と比較して、EPSモデルでは有意な血清総タンパクの減少、腹膜肥厚、腹膜へのマクロファージの浸潤、血管新生の指標となるCD31陽性細胞数の増加が認められたが、それらは血清総タンパクを除きフォンダパリヌクスの投与により有意に改善された。血清総タンパクの減少、腹膜へのマクロファージの浸潤とCD31陽性細胞数の増加に対する改善は、柴苓湯の併用でさらに有意に改善された。このことから、抗血栓症薬と柴苓湯の併用療法は腹膜透析時の腹膜線維症の発症予防に有用である可能性が示された。

Kitamotoら⁴⁾は、EPSに対する柴苓湯単独の予防効果をラットで検討している。ラットにCGを1日1回28日間腹腔内投与し、この期間中、医療用柴苓湯エキス製剤原末 (蒼朮配合) を500mg/kg/日 (ヒト1日量の約5倍) となるように飲水に溶解し自由摂取させた。28日後の血清総タンパク量および血漿スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性は、CG投与により有意に減少していたが、柴苓湯投与群ではそれぞれ有意に回復した。腹膜の組織学的評価では、腹膜の厚さ、線維化とフィブロネクチン発現量、

ED-1陽性細胞数、CD31陽性細胞数、酸化ストレスのマーカである4-ヒドロキシ-2-ノネナール (HNE) 沈着量がCG投与により有意に増加していたが、柴苓湯投与群ではそれらは有意に回復した。以上のことから、柴苓湯は腹膜透析時に発症する腹膜線維症の予防に有用である可能性が示唆された。

膀胱障害モデル

Fujitsukaら^{5, 6)}は、ペントバルビタールで麻酔したラットの利尿効果について検討している。ラットにペントバルビタールを腹腔内投与して麻酔し、頸静脈、十二指腸、膀胱にカニユーレを挿入した。医療用柴苓湯エキス製剤原末(蒼朮配合) 1.0g/kg(ヒト1日量の約10倍)を十二指腸に投与し、投与30分前から60分後まで30分間隔で平均血圧と尿量をモニターした。その結果、柴苓湯投与群で尿量と尿中カリウム排泄量が有意に増加し、尿の浸透圧が有意に減少した。尿中ナトリウム濃度には影響はなかった。また、電解質クリアランス、浸透圧クリアランス、自由水再吸収量は有意に増加していたが、電解質を含まない自由水再吸収量には影響がなかった。柴苓湯エキス製剤原末1.5g/kg(ヒト1日量の約15倍)を十二指腸に投与したとき、尿量と尿中一酸化窒素(NO)代謝物濃度、さらに尿素窒素排泄量が有意に増加していたが、NO合成酵素阻害剤であるN^G-ニトロ-L-アルギニンメチルエステル(L-NAME)を柴苓湯投与の5分前に腹腔内投与することにより、それらの作用は有意に抑制された。血圧について、柴苓湯単独では変化は見られなかったが、L-NAME投与により有意に上昇した血圧は、柴苓湯はさらに有意に上昇させた。また、柴苓湯投与30分後に摘出した腎皮質を[Arg⁸]-バソプレシン(AVP)と反応させて組織中cAMPの量を測定したところ、柴苓湯投与群はAVPによるcAMPの増加を有意に抑制したが、L-NAMEの前処置によりそれは有意に回復した。柴苓湯は、AVP非刺激時のcAMP濃度には影響を示さなかったが、L-NAMEの前処置により有意に増加した。以上のことから、柴苓湯はNO産生を亢進させ、AVPが関与するシグナルを遮断することにより、利尿作用を示すことが推測された。

膀胱がんモデル

Hagiwaraら⁷⁾は、N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン(BBN)によって誘発したラットの膀胱がん

に対する柴苓湯の作用を検討している。ラットをBBNを含む飲水で4週間飼育した後、食餌に3.6%の医療用柴苓湯エキス製剤原末(蒼朮配合、ヒト1日量の約15倍)を添加してさらに32週間飼育した。その結果、柴苓湯投与群で膀胱における乳頭腫の発現の有意な減少が認められ、弱い抗腫瘍活性が認められた。

妊娠高血圧症候群モデル

Takeiら⁸⁾は、ラットにおけるL-NAME誘発妊娠高血圧症候群に対する柴苓湯の作用を検討している。ラットを交配し、膣に精液の塗抹が観察された日を妊娠初日とした。妊娠14日目に、ラットに浸透圧輸液ポンプ埋め込み術を施し、L-NAMEを連続的に投与した。医療用柴苓湯エキス製剤原末(蒼朮配合)は、1.0または2.0g/kg/日の投与量(ヒト1日量の約10または20倍)で、妊娠14日目から20日目まで強制経口投与した。非妊娠ラットおよび妊娠19日目ラットの収縮期血圧は、L-NAMEの投与によりそれぞれ有意に上昇していたが、柴苓湯投与群では用量依存的に回復し、1.0g/kg投与群でも有意な回復が認められた。また、柴苓湯はL-NAMEを投与していない妊娠ラットの血圧には、影響を及ぼさなかった。血清中のNO濃度は、L-NAME投与の有無にかかわらず、柴苓湯投与により用量依的に増加し、1.0g/kg投与群でも有意な増加が認められた。血管拡張作用のあるCGRPは、妊娠ラットにおいてL-NAMEで誘発される高血圧を抑制することが報告されているが、2.0g/kg柴苓湯投与群では血漿中のCGRPは有意に高い濃度を示した。また、妊娠ラットの血清中の17β-エストラジオール濃度は、L-NAME非投与の柴苓湯投与群で有意に低下し、1.0g/kg投与群でも有意に低かった。以上のことから、柴苓湯は妊娠高血圧症候群に対して有用である可能性が示唆された。

滲出性中耳炎モデル

Sugiuraら^{9, 10)}は、モルモットにおける滲出性中耳炎モデルに対する柴苓湯の作用を検討している。モルモットに医療用柴苓湯エキス製剤(蒼朮配合、エキス原末か顆粒剤かは不明)600mg/kg/日の投与量(エキス原末ならヒト1日量の約6倍、顆粒剤なら約4倍)で1日1回14日間強制経口投与後、鼓室内に肺炎桿菌由来のリポ多糖(LPS)を注入し、滲出性中耳炎を惹起した。注入後、1、3、7日目にはコントロール群で中耳の滲出液量の増加および耳管と中耳

鼓室口部の線毛の活動量と粘液線毛輸送機能の減少が認められたが、柴苓湯投与群では有意な回復が認められた。特に、LPSを注入しなかった正常群と比較しても、3、7日目の線毛の活動量と、粘液線毛輸送機能では観察期間を通して有意差のないレベルまで回復していた。以上のことから、柴苓湯は粘液線毛輸送機能を改善することにより滲出性中耳炎の発症を予防する効果があることが示唆された。

歯肉炎モデル

Hattoriら¹¹⁾は、ラットにカルシウム拮抗薬のニフェジピンを連続投与したときに発症する歯肉の増殖に対する柴苓湯の作用を検討している。ラットにニフェジピンを6週間連続経口投与し、その後、ニフェジピンに医療用柴苓湯エキス製剤原末(蒼朮配合)500mg/kg/日(ヒト1日量の約5倍)を追加して8週間連続経口投与した。ニフェジピンの投与により、ラット下顎切歯の間隔が有意に開き、歯肉の有意な増殖が認められたが、柴苓湯投与群ではニフェジピン非投与群と同等となるまで有意に改善していた。アザン染色による歯肉の組織学的評価では、ニフェジピン投与群では有意なコラーゲンの蓄積が認められたが、柴苓湯投与群では有意に改善していた。以上のことから、柴苓湯はカルシウム拮抗薬による歯肉増殖の治療に有用である可能性が示唆された。

ブドウ膜炎(房水フレア)モデル

Yanoら¹²⁾は、ウサギにおけるブドウ膜炎に対する柴苓湯の作用を検討している。ウサギに医療用柴苓湯エキス製剤原末(蒼朮配合)を0.6%含む食餌(ヒト1日量の約10倍)で5日間飼育した。その後、LPSを静脈内投与し、眼房水フレアをフレアメーターにより経時的に測定した結果、柴苓湯投与群では有意な眼房水フレアの改善が認められた。以上のことから、柴苓湯は炎症性のブドウ膜炎の症状を改善する可能性が示唆された。

網膜血管新生モデル

小菅ら¹³⁾は、未熟児網膜症に類似した症状を呈する高酸素負荷網膜血管新生モデルラットにおける柴苓湯の作用を検討している。新生児ラットを80%酸素下20.5時間、大気下0.5時間、次いで3時間で徐々に80%酸素負荷に戻す周期で12日齢まで飼育後、大気中で18日齢まで飼育した。

医療用柴苓湯エキス製剤(蒼朮配合、エキス原末か顆粒剤かは不明)は、飲水として0.75g/kg/日もしくは1.5g/kg/日(エキス原末ならヒト1日量の約7.5倍/もしくは15倍、顆粒剤なら約5倍もしくは10倍)を6~17日齢の間、経口投与した。18日齢時にラットを屠殺後、網膜を摘出して標本を作製し、症状の重症度を評価したところ、柴苓湯投与群で重症例の発生率が有意に少なかった。網膜中の血管内皮増殖因子(VEGF)濃度は精製水を投与した対照群と比較して有意差は認められなかった。以上のことから、柴苓湯は網膜血管新生の重症化を抑制する可能性が示唆された。

ステロイド剤の副作用

Tozawaら¹⁴⁾は、ステロイド剤の副作用である視床下部-下垂体-副腎軸(HPA軸)の抑制に対する柴苓湯の保護作用を検討している。ラットにプレドニゾロン(PSL)および医療用柴苓湯エキス製剤(蒼朮配合、エキス原末か顆粒剤かは不明)1.5%(エキス原末ならヒト1日量の約15倍、顆粒剤なら約10倍)を含む飲水と食餌で14日間飼育した。その後、PSLは投与を中止し、柴苓湯は継続したまま7日間飼育した。安静時の血漿中副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)濃度は、PSL投与を中止した日と翌日で有意に低下し、3日目に回復していたが、低下時の濃度は柴苓湯投与群より非投与群の方が有意に低かった。またラットの尾をピンセットで挟むテールピンチストレスを与えた15分後の血漿中ACTH量は、PSL投与により中止当日と翌日において有意に低下し3日目に回復していたが、柴苓湯投与群では中止した翌日には有意に回復していた。下垂体前葉中のACTH量、視床下部の正中隆起中のACTH放出ホルモン(CRH)量は、PSL投与により有意に減少し、PSL投与中止5日目には回復したが、柴苓湯投与群においては中止3日目には有意に回復していた。以上のことから、柴苓湯はステロイド剤によるHAP軸の抑制からの回復を促進する作用を有することが推測された。

ニフェジピンとの薬物相互作用

Ikehataら¹⁵⁾は、ラットにおいて、CYP3A基質であるニフェジピンの体内動態に対する柴苓湯の影響を検討している。ラットに医療用柴苓湯エキス製剤原末(白朮配合)1.4g/kg(ヒト1日量の約10倍)を単回経口投与し、その24時間後にニフェジピンを経口投与したとき、ニフェジピンの血中濃度の有意な低下が認められたが、柴苓湯エキス原

末0.14g/kg(ヒト1日量)の単回投与では影響は認められなかった。同様に柴苓湯を1日1回1週間連続投与した後にニフェジピンを投与した時には、ニフェジピンの血中濃度推移に柴苓湯は有意な影響を及ぼさなかった。また、ニフェジピンをラットに静脈内投与したときには、柴苓湯の影響

は認められなかった。以上のことから、高用量の柴苓湯は一過性に消化管上皮における薬物代謝酵素発現を誘導する可能性があるが、臨床用量では影響はなく、実際の臨床では柴苓湯と西洋薬間で薬物代謝酵素を介する薬物相互作用は発生しないことが推測された。

表 各種モデルに対する試験結果(まとめ)

		著者	使用動物	投与量 (有意差のあった最少用量のみ記載)	結果 (一部抜粋)
モデル 潰瘍性大腸炎	DSS誘発	Endo ¹⁾	BALB/cマウス(♂) (7週齢, n = 5)	柴苓湯 2.4g/kg/日 連続経口投与(7日間)	大腸の長さの短縮とMPO活性、 各種炎症性サイトカインの改善
	オキサゾロン誘発	Watanabe ²⁾	BALB/cマウス(♂) (5週齢, n = 3~42)	柴苓湯 投与量不明 連続経口投与(3日間)	疾患活動性スコアと大腸の肉眼的所見の改善 Th1の活性化
モデル 腹膜線維症	CG誘発	加藤 ³⁾	Wistar系ラット(♂) (6週齢)	柴苓湯 0.5g/kg/日 連続飲水投与(4週間)	フォンダバリヌスとの併用で腹膜肥厚や マクロファージの浸潤が改善
		Kitamoto ⁴⁾	Wistar系ラット(♂) (6週齢, n = 5~6)	柴苓湯 0.5g/kg/日 連続飲水投与(28日間)	腹膜肥厚、線維化、フィブロネクチン発現量、 ED-1陽性細胞数、CD31陽性細胞数、 HNE沈着量の回復
モデル 膀胱障害	L-NAME誘発	Fujitsuka ⁵⁾	Wistar系ラット(♂) (230~250g, n = 6~7×6群)	柴苓湯 1.0g/kg 十二指腸投与	尿量、NO代謝物・尿素窒素排泄量の増加
		Fujitsuka ⁶⁾	Wistar系ラット(♂) (n = 8~9×4群)	柴苓湯 1.5g/kg 十二指腸投与	AVPIによる腎組織中cAMPの増加を抑制
モデル 膀胱がん	BBN誘発	Hagiwara ⁷⁾	F344ラット(♂) (6週齢, n = 10, 20×3群)	柴苓湯 3.6% 混合餌投与(32週間)	膀胱における乳頭腫の発現抑制
モデル 妊娠高血圧 症候群	L-NAME誘発	Takei ⁸⁾	SD系ラット(♀) (180~210g, 8週齢, n = 10)	柴苓湯 1.0g/kg/日 または2.0g/kg/日 連続経口投与(7日間)	血圧の回復 CGRPの増加
モデル 滲出性中耳炎	LPS誘発	Sugiura ⁹⁾	Hartley系モルモット(♀) (200g, n = 30×4群)	柴苓湯 0.6g/kg/日 連続経口投与(14日間)	粘液線毛輸送機能の改善
		Sugiura ¹⁰⁾	Hartley系モルモット(♀) (200g, n = 10×3群)	柴苓湯 0.6g/kg/日 連続経口投与(14日間)	
モデル 歯肉炎	ニフェジピン誘発	Hattori ¹¹⁾	Wistar系ラット(♂) (4週齢, n = 6)	柴苓湯 0.5g/kg/日 連続経口投与(8週間)	歯肉の増殖抑制 コラーゲンの蓄積改善
モデル ブドウ膜炎	LPS誘発	Yano ¹²⁾	日本雑種有色ウサギ(♂) (2~3kg, n = 9)	柴苓湯 0.6% 混合餌投与(5日間)	眼房水フレアの改善
網膜血管新生モデル		小菅 ¹³⁾	新生児SD系ラット (6日齢, n = 9)	柴苓湯 0.75または1.5g/kg/日 連続経口投与(12日間)	重症例の発生率の低下
ステロイドの副作用		Tozawa ¹⁴⁾	Wistar系ラット(♂) (170~190g, n = 6~8)	柴苓湯 1.5g/kg/日 連続飲水と混合餌投与(21日間)	ACTH、CRH放出量の回復
薬物相互作用		Ikehata ¹⁵⁾	Wistar系ラット(♂) (260~280g, n = 4~6×3群)	柴苓湯 14g/kg 単回経口投与	柴苓湯常用量では、ニフェジピンに対する 薬物相互作用はみられない

【参考文献】

- Endo M., et al.: Suppression of murine colitis by Kampo medicines, with special reference to the efficacy of saireito, J. Trad. Med., 26(3): 110-121, 2009
- Watanabe T., et al.: The traditional herbal medicine saireito exerts its inhibitory effect on murine oxazolone-induced colitis via the induction of Th1-polarized immune responses in the mucosal immune system of the colon, Int. Arch. Allergy. Immunol., 151(2): 98-106, 2010
- 加藤 こそえ ほか: 腹膜障害の基礎と臨床 腹膜線維症モデルにおける凝固系Xa因子阻害剤と柴苓湯の併用による抑制効果, 腹膜透析: 430-433, 2010
- Kitamoto M., et al.: Sairei-to ameliorates rat peritoneal fibrosis partly through suppression of oxidative stress, Nephron Exp. Nephrol., 117(3): e71-81, 2011
- Fujitsuka N., et al.: The diuretic effect of Sairei-to is mediated by nitric oxide production in pentobarbital-anesthetized rats, J. Pharmacol. Sci., 94(2): 185-191, 2004
- Fujitsuka N., et al.: Effect of Sairei-to on signal transduction of the vasopressin V2 receptor in rat renal cortex, J. Trad. Med., 21(6): 271-274, 2004
- Hagiwara A., et al.: Lack of enhancing effect of two Kampo medicines, Sho-saiko-to (TJ-9) and Sairei-to (TJ-114), on rat urinary bladder carcinogenesis initiated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine, Teratog. Carcinog. Mutagen., 22(1): 41-50, 2002
- Takei H., et al.: The herbal medicines Saireito and Bioigito improve the hypertension of pre-eclamptic rats induced by N^ω-nitro-L-arginine methyl ester, Phytomedicine, 14(9): 591-600, 2007
- Sugiura Y., et al.: The herbal medicine, sairei-to, prevents endotoxin-induced otitis media with effusion in the guinea pig, Acta Otolaryngol. Suppl., 531, 21-33, 1997
- Sugiura Y., et al.: The herbal medicine, sairei-to, enhances the mucociliary activity of the tubotympanum in the healthy guinea pig, Acta Otolaryngol. Suppl., 531, 17-20, 1997
- Hattori T., et al.: Therapy for nifedipine-induced gingival overgrowth by Saireito in rats, Eur. J. Med. Res., 14(11): 497-501, 2009
- Yano H., et al.: Effects of Kakkon-to and Sairei-to on experimental elevation of aqueous flare in pigmented rabbits, Jpn. J. Ophthalmol., 43(4): 279-284, 1999
- 小菅正太郎 ほか: 柴苓湯の高酸素負荷ラット網膜血管新生への影響, 日本眼科学会雑誌, 110(9): 683-688, 2006
- Tozawa F., et al.: Saireito (a Chinese herbal drug) decreases inhibitory effect of prednisolone and accelerates the recovery of rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis, Endocr. J., 45(1): 69-74, 1998
- Ikehata M., et al.: Effects of Sairei-to on the pharmacokinetics of nifedipine in rats, Phytother. Res., 22(1): 12-17, 2008