

柴苓湯の肥厚性瘢痕形成に対する薬理作用の検討

—TGF- β シグナルを介したメカニズム—

医療法人協和会 第二協立病院 産婦人科(兵庫県) 荘園 ヘキ子

線維芽細胞の過度な増殖を主体とする肥厚性瘢痕に対する柴苓湯の臨床効果が多数報告されているが、そのメカニズムについては明らかではない。今回、TGF- β シグナルを介した肥厚性瘢痕形成のメカニズムにおける柴苓湯の薬理作用について検討したので、柴苓湯使用の実際と著者の感触と併せて報告する。

はじめに

熱傷・外傷後に瘢痕が盛り上がってくる肥厚性瘢痕は、線維芽細胞の過度な増殖と機能異常が主体であると考えられている。恥骨部周辺はその好発部位で、帝王切開後患者の約30%にみられ¹⁾、疼痛や掻痒感といった自覚症状の他に、発赤、腫脹などの外観の醜形を来すことから、術後の創痕に不満を訴える女性は少なくない。治療法としては、外科的に瘢痕形成術、レーザー照射のほか、保存的治療としてステロイド薬やヘパリン類似物質軟膏などの外用、圧迫療法、トラニラストなど抗アレルギー薬の内服などがある。しかし、授乳を行う帝王切開術後患者に関しては、トラニラストは母乳への移行や副作用の面から投与が制限され、また他にあまり有効な治療法がないことから、大半が放置されてきた。

柴苓湯は、産科領域では妊娠中・授乳中の患者に対し、妊娠浮腫、妊娠蛋白尿に対する治療薬として用いられている薬剤であるが、炎症を伴う疾患にも用いられてきた。過去、臨床においても肥厚性瘢痕の形成抑制および自覚症状の軽減効果が多数報告されている²⁻⁵⁾。柴苓湯の作用は、内因性ステロイド分泌促進、線維芽細胞の増殖能抑制作用が関与していると考えられているが、その機序に関しては不明な点も多い。

今回、われわれは瘢痕組織および正常ヒト皮膚線維芽細胞を用いて、柴苓湯の瘢痕形成抑制効果について基礎検討を行った⁶⁾。

瘢痕形成のメカニズム

癌をはじめ多様な疾患や生理機能において、多くの細胞の増殖抑制や組織線維化に関わるTGF- β は、線維芽細胞の過度な増殖と機能異常を主体とする肥厚性瘢痕の形成にも関与する。TGF- β が受容体に結合するとSmad2あるいはSmad3がリン酸化され、リン酸化した2分子のSmad2/3は1分子のSmad4と3量体の複合体を形成し、核内移行する。核内で、

Smad複合体は標的遺伝子の発現を制御し、様々な細胞応答を惹起する⁷⁾。線維芽細胞では結合組織成長因子(connective tissue growth factor; CTGF)が分泌され、これが皮膚線維芽細胞の走化や増殖を促す⁸⁾。

正常な組織修復ではTGF- β の産生が一過性に増加し、続いてCTGF発現が誘導される。通常この反応は一過性であり、創傷の治癒または瘢痕の成熟とともになんらかの機構が働き、この反応は消失する。しかし、障害刺激が繰り返されるとTGF- β は持続的に産生され、その停止機構を超えて慢性の過剰産生の悪循環に陥る。過修復の状態は組織の瘢痕化を招き、これが慢性化すると組織線維化となる⁹⁾。

肥厚性瘢痕形成に対する柴苓湯の効果

(1) 柴苓湯服用前後のヒト血清による線維芽細胞増殖抑制効果

柴苓湯の服用により線維芽細胞の増殖が抑制されるかを検討するために、柴苓湯服用前の健常成人女性5名の血清(服用前血清)と、柴苓湯を14日間服用した健常成人女性血清(服用後血清)を、反復帝王切開時に切除した肥厚性瘢痕組織より分離培養した線維芽細胞に添加し、7日後にその増殖能をMTTアッセイにより評価した。

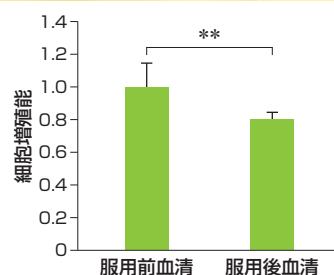
柴苓湯服用後の健常成人女性の血清を添加すると、非服用時の血清を添加した場合に比べて線維芽細胞の細胞増殖能が有意に低下した(図1)。

(2) 正常ヒト皮膚線維芽細胞における柴苓湯の細胞増殖抑制効果

① 柴苓湯の線維芽細胞増殖抑制効果

培養正常ヒト皮膚線維芽細胞に種々の濃度の柴苓湯エキスおよびTGF- β 1 2ng/mLを添加し、72時間後の細胞増殖能を

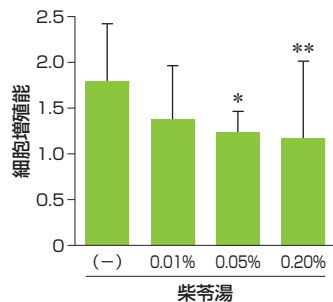
図1 柴苓湯服用前後のヒト血清による線維芽細胞増殖抑制効果



Data are represented by the mean ± S.D. (n=5) ** : p<0.01 (paired t-test)

図2 正常ヒト皮膚線維芽細胞における柴苓湯の細胞増殖抑制効果

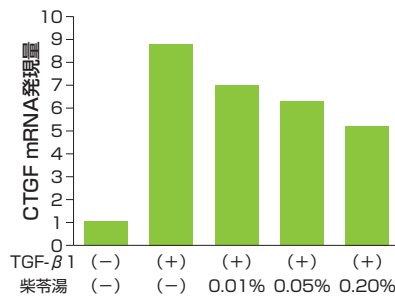
2-1 線維芽細胞増殖能



Data are represented by the mean ± S.D. (n=10)
*: p<0.05, **: p<0.01 vs Control
(One way ANOVA followed by Dunnett test)

TGF-β1非添加時の細胞増殖能を1としてTGF-β1添加時の細胞増殖能の割合を示している。

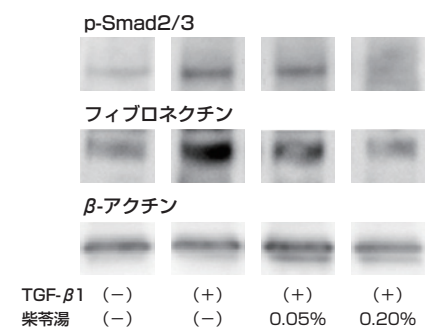
2-2 CTGF mRNAの発現量



Data are represented by the mean (n=10)

TGF-β1非添加/柴苓湯(-)群のCTGF mRNA発現量を1とした相対値を示している。

2-3 p-Smad2/3およびフィブロネクチンのタンパク発現量 (文献6より引用改変)



MTT アッセイにより評価した。

その結果、TGF-β1の刺激下での正常ヒト皮膚線維芽細胞増殖能は、柴苓湯エキスの添加により濃度依存的に抑制された(図2-1)。

②柴苓湯のCTGF mRNA発現抑制効果

線維芽細胞に種々の濃度の柴苓湯エキスおよびTGF-β1 2ng/mLを添加し、6時間後のCTGF mRNAをリアルタイムPCR法にて検討した。

その結果、TGF-β1の刺激により正常ヒト皮膚線維芽細胞におけるCTGF mRNAの発現は亢進し、柴苓湯エキスの添加により濃度依存的に抑制された(図2-2)。

③Smad2/3のリン酸化とフィブロネクチン発現増加に対する柴苓湯の抑制効果

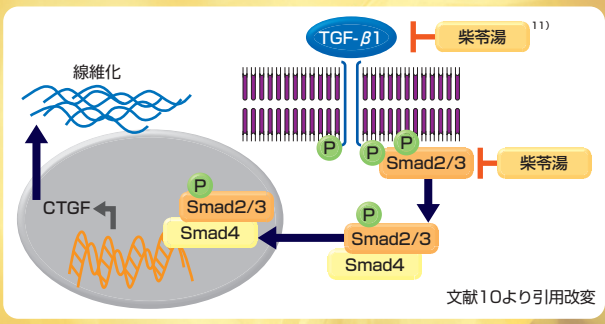
線維芽細胞に種々の濃度の柴苓湯エキスおよびTGF-β1 2ng/mLを24時間添加し、ウェスタンブロット法にて検討した。72時間後に線維芽細胞増殖能をMTT アッセイにより評価した。

その結果、柴苓湯エキスの添加により、正常ヒト皮膚線維芽細胞においてTGF-β1刺激によるSmad2/3のリン酸化と細胞外基質であるフィブロネクチンの発現が濃度依存的に抑制された(図2-3)。

細胞の増殖抑制効果を示すと考えられた(図3)。柴苓湯の線維芽細胞増殖抑制のメカニズムの一部が明らかになるとともに、産婦人科疾患術後患者の肥厚性瘢痕形成抑制に対する柴苓湯のこれまでの臨床報告の結果を支持するものと考えられる。

これまで薬理作用に不明な点が多かった漢方薬であるが、今回基礎研究によりその作用の一端が明らかとなった。今後は既存薬剤との相乗効果や、より効果発現がみられやすい患者の体質、いわゆる“証”と西洋医学的な患者背景との関係性を見出す研究が進めば、より漢方薬の認知と使用の幅が広がるものと考えられる。

図3 瘢痕形成のメカニズムと柴苓湯の薬理作用



【参考文献】

- 1) 土佐眞美子 ほか: 帝王切開後瘢痕ケロイドの発生率に関する検討. 瘢痕・ケロイド治療ジャーナル 1: 96-98, 2007
- 2) 平松幸恭 ほか: ケロイド・肥厚性瘢痕に対する柴苓湯の有用性について. 日形会誌 28: 549-553, 2008
- 3) 馬場 奨 ほか: 頭頸部外科領域手術後の肥厚性瘢痕に対する柴苓湯の予防効果－トラニラストとの比較－. Prog Med 28: 2977-2982, 2008
- 4) 金城盛吉 ほか: 肥厚性瘢痕形成予防のための工夫. 漢方診療 15: 14-16, 1996
- 5) 正岡 博: 柴苓湯投与による帝王切開術後の肥厚性瘢痕形成に関する臨床的検討. Phil漢方 37: 16-17, 2012
- 6) 荘園ヘキ子 ほか: 柴苓湯の肥厚性瘢痕形成に対する効果－TGF-βシグナルを介したメカニズム－. 瘢痕・ケロイド治療ジャーナル 9: 1-7, 2015
- 7) 宮澤恵二: TGF-βのシグナル伝達とSmad cofactors－多様な細胞応答を可能にする分子の基盤－. 山梨医科大学誌 24: 65-73, 2009
- 8) 曾根由美子 ほか: ケロイド、肥厚性瘢痕におけるCTGF mRNAの発現. 日形会誌 22: 560-565, 2002
- 9) 白井陽太郎 ほか: 新たな治療へ向けて TGF-β阻害剤の臨床応用－難治性疾患への新たな治療法－. 医学のあゆみ 234: 1001-1005, 2010
- 10) Rosemary JA: A sweet link between TGF beta and vascular disease? Nature Genetics 38: 400-401, 2006
- 11) Ono T, et al.: Suppressive mechanisms of Sairei-to on mesangial matrix expansion in rat mesangioproliferative glomerulonephritis. Nephron Exp Nephrol 100: e132-e142, 2005

柴苓湯投与の実際

著者は、柴苓湯を帝王切開術翌日より約3ヵ月間投与している。前回の帝王切開創部が肥厚性瘢痕となり不満を訴えていた患者に術後柴苓湯を投与すると、半数以上の患者で柴苓湯を投与しなかった前回と比べ赤みや痛みがずいぶん軽減し、患者の満足度も高かった。

まとめ

本研究により、柴苓湯は、従来考えられていたTGF-β1サイトカインの産生抑制効果に加えて、皮膚線維芽細胞におけるSmad2/3のリン酸化抑制によるCTGF mRNAの発現抑制と、それに続くフィブロネクチン産生抑制を介して、線維芽細胞の増殖抑制効果を示すと考えられた。