

名古屋市立大学大学院 薬学研究科 教授 牧野 利明

担がんモデル

山崎ら¹⁾は、マウスの尾静脈にマウス腎細胞がん株のRenca細胞を投与した。生薬から調製した十全大補湯エキス(桂枝、白朮を使用。ヒト常用量の約20倍量)は、がん細胞移入の1週間前から4週間連続して自由飲水により投与した。その後屠殺し、肺における転移結節数を測定したところ、対照群と比較して十全大補湯エキス投与群において有意な低値が観察された。

Muraishiら²⁾は、マウスの尾静脈にRenca細胞を投与し、その後、医療用十全大補湯エキス原末(以下、JTTとする)(蒼朮配合、ヒト常用量の約0.5倍量)を14日間連続経口投与した。また、がん細胞移入後5日目から5日間連続して、インターフェロン(IFN)- α を腹腔内投与した。がん細胞移入後20日目に屠殺し、肺を摘出して評価したところ、がん細胞の結節数は、対照群と比較してJTT単独投与群では差が認められず、IFN- α 単独投与群で有意な低値を示したが、両者を併用した投与群ではそれぞれの単独投与群と比べて有意な低値が示され、両者の併用効果が認められた。IFN- α の代わりにIFN- γ を腹腔内投与した場合は、JTTまたはIFN- γ 単独投与群では対照群と比較して差は認められなかったが、両者を併用した投与群ではIFN- γ 単独投与群と比べて有意な低値が示され、同様に両者の併用効果が認められた。

Ohnishiら³⁾、Onishiら⁴⁾、Matsuoら⁵⁾は、JTT(蒼朮配合、ヒト常用量の約1.6、8、16倍量)を7日間、経口投与したマウスを麻酔下で開腹し、マウス結腸がんcolon26-L5細胞を門脈内に注射し、その19日後に屠殺した。肝臓に形成される結節数はJTT全投与群で、肝臓重量はJTT中および高用量投与群で、対照群と比較して用量依存的に有意な低値であった。マウスを屠殺せずに飼育し続け、生存曲線を求めたところ、対照群では30日目に全匹死亡したのに対して、JTT高用量投与群では65日目でも30%のマウスが生存し、有意に生存率が延長した。がん細胞を移入する前に、ナチュラルキラー(NK)細胞を枯渇化させる抗asialoGM1抗体を静脈内投与し、移入13日後

に屠殺したとき、抗体を投与しなかった群と比較して抗体を投与した対照群では顕著に肝臓での結節数と重量が高値を示したが、対照群と比較してJTT高用量投与群では有意な低値を示した。同様にマクロファージを枯渇化させる2クロロアデノシンを静脈内投与したとき、また胸腺が欠損しているヌードマウスでこの試験を行ったとき、JTTの作用はみられなくなった。移入するがん細胞をマウスメラノーマ細胞の静脈内投与とし、14日後の肺を摘出したところ、形成された結節数は対照群と比較してJTT高用量投与群で有意な低値を示した。一方、結腸がん細胞を門脈内に注射する代わりに尾静脈内に移入したときに形成される肺での結節数では、対照群と比較してJTT高用量投与群で差はなかった。JTT高用量を7日間投与した後、腹腔内浸潤細胞を採取し、colon26-L5細胞と2日間共培養したとき、対照群と比較してJTT投与群から調製した細胞では有意な細胞数の低値が認められた。

Kamiyamaら⁶⁾は、若齢マウスの脇腹にヒト脳腫瘍細胞株GL261細胞を皮下投与し、3週間後のがん組織を剥離して別の若齢および高齢のマウスそれぞれの脇腹に移植した。その後、JTT(蒼朮使用、ヒト常用量の約5倍または10倍量)を3週間混餌投与し屠殺した。高齢マウスでは、対照群と比較してJTT高用量投与群において有意に高値な体重、脾臓細胞におけるNK活性を認めた。また、がん組織の病理組織学的評価では、対照群と比較してJTT両用量投与群において、用量依存的に有意な新生血管の面積の低値を認めた。この作用は、若齢マウスでは認められなかった。

包ら⁷⁾は、マウスの右脇部皮下にマウスLewis肺がん細胞を接種し、その2日後から生薬から調製した十全大補湯エキス(白朮、紅参、熟地黄、唐川芎、唐当帰を使用、ヒト常用量の約15倍量)を1日1回14日間または21日間連続して強制経口投与しながら飼育し、その後屠殺した。14日後の腫瘍の重さは、対照群と比較して十全大補湯投与群において有意な低値を示した。21日後の肺への転移結節数は、対照群と比較して十全大補湯投与群において有意な低値を示した。

孫在典ら⁸⁾、孫大兴ら⁹⁾、張ら¹⁰⁾は、マウスの右脇部皮

下にLewis細胞を接種し、その24時間後から生薬から調製した十全大補湯エキス(白朮、熟地黄、唐川芎、唐当帰を使用、ヒト常用量の約15倍量)を1日1回経口投与しながら15日間飼育し、その後屠殺した。対照群と比較して十全大補湯投与群では、有意な腫瘍、脾臓、胸腺の各重量と、血清IFN- γ 濃度の高値、血清IL-6濃度の低値が認められたが、肺への転移結節数には影響がなかった。

宋ら¹¹⁾は、マウスの右脇部皮下にLewis細胞を接種し、その24時間後から生薬から調製した十全大補湯エキス(白朮、熟地黄、唐川芎、唐当帰を使用、ヒト常用量の約15倍量)を1日1回15日間連続して強制経口投与しながら飼育した。その後マウスを屠殺し肺組織を摘出したところ、対照群と比較して十全大補湯投与群で有意な腫瘍重量の低値と、肺リンパ節での結節数の低値を認めた。

包ら¹²⁾は、マウスの右脇部皮下にマウス肝がんH22細胞を接種し、その24時間後から生薬から調製した十全大補湯エキス(白朮、紅参、熟地黄、唐川芎、唐当帰を使用、ヒト常用量の約15倍量)を1日1回10日間連続して強制経口投与しながら飼育し、その後屠殺した。10日後の腫瘍重量は、対照群と比較して十全大補湯投与群において有意な低値を示した。腫瘍から病理組織標本を作成し、アポトーシスしている細胞の数を測定したところ、対照群と比較して十全大補湯投与群において有意な高値を示した。

杜ら¹³⁾は、マウスにH22細胞を腹腔内投与し、10日後に腹水を採取、腹水細胞懸濁液を調製してさらに別のマウスの右脇部皮下に投与した。その24時間後から、1日1回のシスプラチンの腹腔内投与と並行して、生薬から調製した十全大補湯エキス(白朮、熟地黄、唐川芎、唐当帰を使用)の80%エタノール不溶部(多糖画分)(ヒト常用量の9、18倍量)を連続経口投与しながら10日間飼育した。その後屠殺し、腫瘍と脾臓を摘出した。シスプラチン投与群(対照群)の体重は有意に減少したが、対照群と比較して十全大補湯多糖画分高用量併用群では有意な高値を示した。腫瘍の重量は、無処置群と比較して対照群では有意な低値を示したが、対照群と比較して十全大補湯多糖画分高用量併用群でさらに有意な低値を示した。摘出した腫瘍中のアポトーシスした細胞の割合は、無処置群と比較して対照群では高値を示したが、対照群と比較して十全大補湯多糖画分高用量併用群でさらに有意な高値を示した。摘出した脾臓中のアポトーシスした細胞の割合は、無処置群と比較して対照群では高値を示したが、対照群と比較して十全大補湯多糖画分併用群では、低用量、高用量群とも

に用量依存的に有意な低値を示した。摘出した脾臓細胞を培養し、培養液中のサイトカインの濃度を測定したところ、無処置群と比較して対照群では腫瘍壊死因子(TNF)- α 、IFN- γ 、インターロイキン(IL)-2の各濃度は低値を示したが、対照群と比較して十全大補湯多糖画分併用群では、低用量、高用量群ともに用量依存的に有意な高値を示した。

劉ら^{14、15)}は、マウスの左脇腹部皮下にヒト大腸がんHT29細胞を接種し、その2日後に生薬から調製した十全大補湯エキス(白朮、熟地黄、唐川芎、唐当帰使用、ヒト常用量の16倍量)または5-フルオロウラシル(FU)をそれぞれ単独または併用して経口または腹腔内投与しながら4週間飼育した。その後の腫瘍の体積は、対照群と比較して十全大補湯単独群、5-FU併用群で有意な低値を示し、併用により作用の増強が認められた。腫瘍の免疫病理組織学的評価でのIFN- γ の陽性領域、脾臓細胞におけるCD4⁺細胞の割合は、対照群と比較して十全大補湯単独群、5-FU併用群で有意な高値を示し、併用により作用の増強が認められた。

Choiら¹⁶⁾は、マウスにマウス大腸がんCT-26細胞を皮内投与し、その21日後から生薬から調製した十全大補湯エキス(白朮、韓当帰使用、ヒト常用量の約0.07、0.7、7倍量)を21日間投与しながら飼育し、その後屠殺した。腓腹筋の重量は、正常群と比較して薬物を投与しなかった対照群では有意に低値であったが、対照群と比較して十全大補湯低用量及び中用量投与群では有意な高値を示した。血液中の赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値は、正常群と比較して対照群では有意に低値であったが、対照群と比較して十全大補湯低用量投与群において有意な高値を示した。血清でのIL-6、単球走化性タンパク質(MCP)-1、ペプチドYY、グルカゴン様ペプチド(GLP)-1濃度は、正常群と比較して対照群では有意に高値であったが、IL-6、ペプチドYY、GLP-1では対照群と比較して十全大補湯中用量投与群において、MCP-1では全用量投与群で、それぞれ有意な低値を示した。用量依存性はいずれの検査値でも認められなかった。

Takenoら¹⁷⁾は、マウスに卵白アルブミン(OVA)を不完全フロイントアジュバント(IFA)とともに皮下投与し、その7日後にTリンパ腫EL4細胞にOVAを形質転換した株を皮内投与した。最初の皮下投与の7日後から37日後まで、JTT(蒼朮使用、ヒト常用量の約20倍量)を経口投与しながら飼育した。OVAを皮下投与しなかったマウスにがん細胞を移入したとき、その対照群と比較してJTT投与群で

は腫瘍の大きさ、生存率には差は認められず、25~29日目で全匹死亡したが、OVAを皮下投与したマウスにがん細胞を移入したとき、その対照群と比較してJTT投与群では21、25日目でのがんの大きさに有意な低値が認められ、対照群では33日目に全匹が死亡したのに対して、JTT投与群では37日目でも40%のマウスが生存し、有意な延命が認められた。別に、マウスにOVAをIFAとともに皮下投与し、その7日後にもう一度皮下投与した。JTTを最初の皮下投与の7日後から14日後まで1日1回経口投与しながら飼育し、その後屠殺、脾臓と血液を採取し、脾臓細胞をOVAとともに24時間培養した。血清中のOVA特異的IgG_{2a}抗体の濃度および、24時間培養した脾臓細胞中のIFN- γ 産生T細胞数は、対照群と比較してJTT投与群において有意な高値であった。

以上のことから、十全大補湯はがんに対して、マクロファージやNK活性の刺激、アジュバント活性による抗体産生の増強、サイトカイン産生誘導などを介して、抗がん活性を示す可能性が示唆された。

自己免疫性脳脊髄炎モデル

Gaoら¹⁸⁾は、ミエリン基本タンパク質(MBP)を完全フロイントアジュバント(CFA)に懸濁させて、ラットの両後足蹠に皮内投与し、13日目と22日目に眼底採血とMBPの両耳皮内投与を行い、その24時間後の耳介浮腫を計測した。その間、JTT(蒼朮配合、ヒト常用量の約1倍または3倍量)を12日間連続経口投与し、脳脊髄炎の症状を観察によりスコア化して評価しながら飼育した。その結果、JTT低用量投与群では8、9、11日目に、高用量投与群では8、9、11~13日目に、脳脊髄炎スコアが用量依存的に有意に低下していた。耳介浮腫は、13日目では高用量群において、22日目では両投与量群において有意に低値を示した。血清中の抗MBP抗体価は、22日目の両投与量群において有意な低値を示した。十全大補湯は自己免疫性脳脊髄炎に対して有用であることが示唆された。

アレルギーモデル

Noseら¹⁹⁾は、マウスに生薬から調製した十全大補湯エキス(蒼朮使用、ヒト常用量の約5、10倍量)を1日1回7日間連続経口投与後、剃毛した腹部皮膚に塩化ピクリルを塗

布して感作させ、その6日後にマウス両耳介の各表面に塩化ピクリルを塗布して遅延型過敏症を惹起、さらにその24時間後に耳介の厚さを測定したところ、対照群と比較して十全大補湯投与群において用量依存的に有意な低値が認められた。この十全大補湯の作用は、感作直後3日間だけ投与したときでも、耳介の厚さを測定する3日前から投与したときでも、対照群と比較して有意な低値が認められた。また、同様に十全大補湯投与開始7日後に羊赤血球を左足蹠に皮内投与し、さらにその6日後に右足蹠に羊赤血球を皮内投与することで遅延型過敏症を惹起、その24時間後の右足蹠の厚さを測定したところ、対照群と比較して十全大補湯投与群において用量依存的に有意な低値が認められた。

齊川ら²⁰⁾は、マウスの両鼠径部皮膚に塩化ピクリルを塗布して感作させ、その7日後に塩化ピクリルを両耳介の両面に塗布して遅延型アレルギー反応を誘発した。生薬から調製した十全大補湯エキス(蒼朮か白朮の記載なし、ヒト常用量の1、5、10倍量)は、感作から誘発までの7日間、1日1回経口投与した。7日目の耳介浮腫の厚さは、対照群と比較して十全大補湯投与群では、用量依存性は認められなかったが有意な低値を示した。マウスの腹部皮膚にオキサゾロンを塗布して感作させ、その7日後にオキサゾロンを両耳介の内側に塗布してアレルギー反応を誘発するモデルで同様の試験をしたところ、対照群と比較して十全大補湯投与群では用量依存的に有意な低値を示した。耳介中のIgE濃度は十全大補湯低用量投与群のみで有意な低値を示した。マウスの腹部皮膚にオキサゾロンを塗布し、その7、14、21、28日後にオキサゾロンを計4回、両耳介の内側に塗布する慢性モデルで、十全大補湯を連続投与しながら耳介の浮腫の厚さを測定したところ、対照群と比較して十全大補湯低用量投与群では毎回安定して有意な低値を示したが、中用量、高用量投与群では作用が安定してみられなかった。耳介をホモジナイズし、IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ の濃度を測定したところ、対照群と比較して十全大補湯低用量、中用量投与群では有意な低値を示したが、高用量投与群ではIL-6のみ有意な低値を示したものの、IL-2、IL-4、IFN- γ では差は認められず用量依存性は認められなかった。

以上のことから、十全大補湯はアレルギー性疾患、特に遅延型過敏症に対して有効であることが示唆された。

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 (有意差のあった用量のみ記載)	結果 (一部抜粋)	
担がんモデル	山崎ら ¹⁾	BALB/cマウス(♂) (7週齢, n = 14)	生薬から調製したエキス(桂枝、白朮) 2.0g/kg/日 飲水投与(4週間)	肺転移結節数(↓)	
	Muraishiら ²⁾	BALB/cマウス(♀) (7週齢, n = 不明)	JTT(蒼朮)50mg/匹/日 経口投与(14日間)	併用によりIFN-α、γの肺転移抑制作用(↑)	
	Ohnishiら ³⁾ Onishiら ⁴⁾ Matsuoら ⁵⁾	BALB/cマウス(♀) (6~8週齢, n = 5-7)	JTT(蒼朮) 高用量: 40mg/匹/日 経口投与(7日間)	結腸がん細胞の門脈注射後の肝転移、 肝臓重量(↓) 生存率(↑) NK枯渇マウス: 肝転移、肝臓重量(↓) マクロファージorT細胞欠損マウス: 転移抑制なし メラノーマ細胞の静脈注射後の肺転移(↓)	
	Kamiyamaら ⁶⁾	C57BL/6マウス(♀) (8, 43週齢, n = 5)	JTT(蒼朮)0.5、1.0g/kg/日 混餌投与(3週間)	老齢(43週齢)マウスにおいて 体重、NK活性(↑) 新生血管面積(↓) 若齢(8週齢)マウスでは活性なし	
	包ら ⁷⁾	C57マウス(♀) (18~22g, n = 10)	生薬から調製したエキス (白朮、紅参、熟地黄、唐川芎、唐当帰) 8g/kg/日 経口投与(14、21日間)	腫瘍重量、肺転移(↓)	
	孫在典ら ⁸⁾ 孫大兴ら ⁹⁾ 張ら ¹⁰⁾	C57BL/6マウス(♂♀) (20g, n = 10)	生薬から調製したエキス (白朮、熟地黄、唐川芎、唐当帰) 8g/kg/日 経口投与(15日間)	腫瘍、脾臓、胸腺の各重量、血清IFN-γ(↑) 血清IL-6(↓)	
	宋ら ¹¹⁾	C57BL/6マウス(♂♀) (20g, n = 10)	生薬から調製したエキス (白朮、熟地黄、唐川芎、唐当帰) 8g/kg/日 経口投与(15日間)	腫瘍重量、肺リンパ節転移(↓)	
	包ら ¹²⁾	昆明マウス(♂♀) (18~22g, n = 10)	生薬から調製したエキス (白朮、紅参、熟地黄、唐川芎、唐当帰) 8g/kg/日 経口投与(10日間)	腫瘍重量(↓) アポトーシス細胞数(↑)	
	杜ら ¹³⁾	昆明マウス(♂) (6~8週齢, n = 8)	生薬から調製した80%エタノール不溶部 (白朮、熟地黄、唐川芎、唐当帰) 1、2g/kg/日 経口投与(10日間)	体重(↑) 腫瘍重量(↓) アポトーシス細胞比率: 腫瘍中(↑) 脾臓中(↓) 脾臓中TNF-α、IFN-γ、IL-2(↓)	
	劉ら ^{14、15)}	昆明マウス(♂♀) (6~8週齢, n = 10)	生薬から調製したエキス (白朮、熟地黄、唐川芎、唐当帰) 9g/kg/日 経口投与(4週間)	腫瘍体積(↓) IFN-γ陽性領域、脾臓CD4 ⁺ 比率(↑) いずれも5-FU併用で作用増強	
	Choiら ¹⁶⁾	BALB/cマウス(♂) (6週齢, n = 5)	生薬から調製したエキス(白朮、韓当帰) 中用量: 67.84mg/kg/日 経口投与(21日間)	腓腹筋重量(↑) 血清IL-6、MCP-1、ペプチドYY、GLP-1(↓)	
	Takenoら ¹⁷⁾	C57BL/6マウス(♀) (6~8週齢, n = 3、10)	JTT(蒼朮)2.0g/kg/日 経口投与(30日間)	腫瘍体積(↓) 生存期間(↑) 血清IgG _{2a} 抗体、脾臓IFN-γ産生T細胞数(↑)	
	自己免疫性脳脊髄炎モデル	Gaoら ¹⁸⁾	DAラット(不明) (不明, n = 6)	JTT(蒼朮)100、300mg/kg/日 経口投与(12日間)	脳脊髄炎スコア、血清抗MBP抗体価(↓)
	アレルギーモデル	Noseら ¹⁹⁾	BALB/cマウス(♀) (7週齢, n = 6)	生薬から調製したエキス(蒼朮)ヒト常用量の 約5、10倍量 経口投与(7日間)	塩化ビクリルor羊赤血球誘発遅延型過敏反応 (↓) 誘導相、反応相ともに抑制
齊川ら ²⁰⁾		BALB/cマウス(♀) BDF ₁ マウス(♀) (6週齢, n = 6)	生薬から調製したエキス(蒼朮か白朮か不明) 0.1、0.5、1.0g/kg/日 経口投与(7日間)	塩化ビクリルorオキサゾン誘発遅延型アレルギー反応(↓) 慢性モデルは低用量のみで安定した抑制	

【参考文献】

- 1) 山崎昌司 ほか: マウス腎細胞癌の肺転移に対する漢方薬の効果. *Biotherapy* 13: 971-976, 1999
- 2) Muraishi Y, et al.: Effect of interferon-α/γ in combination with the Japanese and Chinese traditional herbal medicine Juzen-taiho-to on lung metastasis of murine renal cell carcinoma. *Anticancer Res* 20: 2931-2938, 2000
- 3) Ohnishi Y, et al.: Oral administration of a Kampo (Japanese herbal) medicine Juzen-taiho-to inhibits liver metastasis of colon 26-L5 carcinoma cells. *Jpn J Cancer Res* 89: 206-213, 1998
- 4) Onishi Y, et al.: Expression of the anti-metastatic effect induced by Juzen-taiho-to is based on the content of Shimotsu-to constituents. *Biol Pharm Bull* 21: 761-765, 1998
- 5) Matsuo M, et al.: Organ selectivity of Juzen-taiho-to and Ninjin-yoei-to in the expression of anti-metastatic efficacy. *J Trad Med* 19: 93-97, 2002
- 6) Kamiyama H, et al.: Anti-angiogenic and immunomodulatory effect of the herbal medicine "Juzen-taiho-to" on malignant glioma. *Biol Pharm Bull* 28: 2111-2116, 2005
- 7) 包素珍 ほか: 十全大補湯抗小鼠Lewis肺癌转移的实验研究. *中医药学刊* 23: 1018-1019, 2005
- 8) 孫在典 ほか: 十全大補湯/Cx抑制作用及对生活质量影响的比较研究. *中华中医药学刊* 25: 2408-2409, 2007
- 9) 孫大兴 ほか: 十全大補湯对Lewis肺癌小鼠MMP-9基因表达的影响. *中华中医药学刊* 29: 2767-2769, 2011
- 10) 張永军 ほか: 十全大補湯促进小鼠与瘤共存的实验研究. *中华中医药学刊* 27: 1308-1310, 2009
- 11) 宋 紅 ほか: 血管内皮细胞生长因子在Lewis肺癌组织中表达的意义及十全大補湯对其干预作用. *中华中医药杂志* 23: 684-687, 2008
- 12) 包素珍 ほか: 十全大補湯诱导肝癌H22小鼠肿瘤细胞凋亡实验研究. *中国中医急症* 15: 518+520+568, 2006
- 13) 杜春海 ほか: 十全大補湯多糖成分抑瘤及免疫调节作用的初步研究. *河北中医药学报* 29: 3-6, 2014
- 14) 刘伟志 ほか: 十全大補湯对化疗药物联合治疗移植性大肠癌小鼠减毒增效作用实验研究. *辽宁中医药大学学报* 15: 70-72, 2013
- 15) 刘伟志 ほか: 十全大補湯与化疗药物联合治疗移植性大肠癌小鼠抗肿瘤作用实验研究. *辽宁中医药大学学报* 16: 29-31, 2014
- 16) Choi YK, et al.: Effect of Sipjeondaabo-tang on cancer-induced anorexia and cachexia in CT-26 tumor-bearing mice. *Mediators Inflamm* 2014: 736563, 2014
- 17) Takeno N, et al.: Immune adjuvant effect of Juzentaihoto, a Japanese traditional herbal medicine, on tumor vaccine therapy in a mouse model. *Int J Oncol* 47: 2115-2122, 2015
- 18) Gao X, et al.: Immunopharmacological studies on the effects of Juzentaihoto and Hochuekito on experimental autoimmune encephalomyelitis in rats. *J Trad Med* 23: 196-202, 2006
- 19) Nose M, et al.: Comparison of immunopharmacological actions of 8 kinds of kampo-hozais clinically used in atopic dermatitis on delayed-type hypersensitivity in mice. *Biol Pharm Bull* 22: 48-54, 1999
- 20) 齊川真穂 ほか: マウスの遅延型アレルギーに対する漢方薬的作用. *昭和医会誌* 66: 360-369, 2006