

柴苓湯による紫外線誘発皮膚炎症の抑制効果とリンパ管機能の関連



クラシエ製薬株式会社 漢方研究所 尾山 真菜実、村田 健太、藤田 日奈

はじめに

紫外線への適度な曝露はビタミンDの合成を促進し、骨形成などにおいて重要な役割を果たしている。しかし、過剰な紫外線の曝露は細胞にダメージを与え、急性炎症を引き起こすことで、紅斑や浮腫形成といった不快症状を引き起こす。さらに、皮膚中では炎症の惹起によりマクロファージや好中球の浸潤が起これ、これに引き続くマトリックスメタロプロテアーゼやサイトカインの放出により、コラーゲンなどの細胞外マトリックスの分解が誘導され、皮膚障害の深刻化を招く。また、度重なる紫外線曝露による皮膚障害の蓄積はシワやシミといった光老化を誘導し、さらには皮膚癌のリスクを高めることが知られている。このため、単回の紫外線曝露による炎症の抑制および早期の収束による皮膚障害の軽減が短期および長期の両方の紫外線対策として重要となる。

リンパ管は不要になった水分や老廃物を排出することで皮膚の恒常性を保っている。皮膚においてリンパ管新生に伴い、炎症部位からのマクロファージのリンパ節への遊走が促進され、炎症の収束を早めることが報告されており¹⁾、リンパ管が炎症の収束において重要な役割を果たしていることが分かっている。また、紫外線照射モデルでは、リンパ管が拡張し、その回収機能が低下すること^{2, 3)}やリンパ管新生の関連因子VEGF-Cの受容体であるVEGFR-3を阻害することで浮腫の収束が遅延すること⁴⁾が報告されており、紫外線誘発皮膚炎症においてもリンパ管との関連が注目されている。

柴苓湯は水瀉性下痢、急性胃腸炎、暑気あたり、むくみの治療に使用される漢方薬であり、小柴胡湯と五苓散の処方合わせた12の生薬から構成されている。小柴胡湯の抗炎症作用と五苓散の水分代謝改善作用の特徴を併せ持つとされ、臨床研究において、放射線治療に伴い誘発されるリンパ浮腫や炎症の改善に有効であることが報告されている⁵⁾。われわれは以前、ヘアレスマウスを用いて紫外線誘発性の皮膚炎症に対して保護効果を有する漢方薬の探索を行い、柴苓湯が紫外線照射により誘発される紅斑および経皮水分蒸散量の増加、真皮層の肥厚、コラーゲン量の減少を抑制することを明らかとした⁶⁾。

本稿では柴苓湯の作用機序としてリンパ管機能との関連に着目し、検討を行った。

試験方法と結果

【方法】 1週間飼育環境に馴化した5週齢のヘアレスマウスをcontrol群、vehicle群、柴苓湯投与群(以下、柴苓湯群)に分け、柴苓湯群にクラシエ柴苓湯エキス細粒(EK-114)のヒト1日分相当量(1250mg/kg)を週5回で3週間経口投与した。最終投与1時間後、後背部にUVB(250mJ/cm²)を照射し、UVB照射前および照射72時間後まで24時間おきの皮膚組織を回収した。回収した皮膚組織について、免疫染色法によりマクロファージ、好中球およびリンパ管をそれぞれ同定し、好中球とマクロファージについては単位面積当たりの陽性細胞数を、リンパ管については単位面積当たりのリンパ管数および1本当たりの断面積を測定し、それぞれ評価を行った。また、ウェスタンブロット法によりVEGF-Cの発現量を測定した。

【結果】

1. マクロファージおよび好中球の皮膚への浸潤に対する効果

まず、柴苓湯の紫外線誘発皮膚炎症に対する効果を検討するために、炎症性細胞である好中球およびマクロファージの皮膚への浸潤を検討した。図1(次頁参照)に示すように、好中球についてはUVB照射48時間後から、マクロファージについてはUVB照射24時間後から72時間後にかけての有意な浸潤増加が認められた。これに対して、柴苓湯群ではUVB照射24時間後に有意な好中球の浸潤抑制が認められ、UVB照射48時間後については浸潤の抑制傾向が見られた。また、マクロファージについても、柴苓湯投与によりUVB照射24時間後に浸潤抑制傾向が見られ、UVB照射48、72時間後には有意な浸潤抑制が認められた。

2. リンパ管構造およびVEGF-C発現量に対する効果

続いて、柴苓湯のリンパ管構造に対する効果を検討するために、組織切片を用いて、リンパ管内皮細胞マーカーpodoplaninを染色した。図2(次頁参照)に示すように、UVB照射48時間後において、control群に対するリンパ管面積の有意な拡大が認められた。一方、単位面積当たりのリンパ管数においては、UVB照射24時間から72時間後に

かけて有意な減少が認められた。これに対して、柴苓湯はリンパ管面積の拡大には影響を及ぼさなかったが、UVB照射24時間後において有意なリンパ管数の増加が認められた。

また、図3に示すように、VEGF-Cの発現量はUVB照射24、48時間後においてはcontrol群に対する増減が認められなかったが、照射72時間後に有意な減少を示した。これに対して、柴苓湯群ではUVB照射24時間および48時

図1 柴苓湯の好中球・マクロファージの浸潤に対する効果

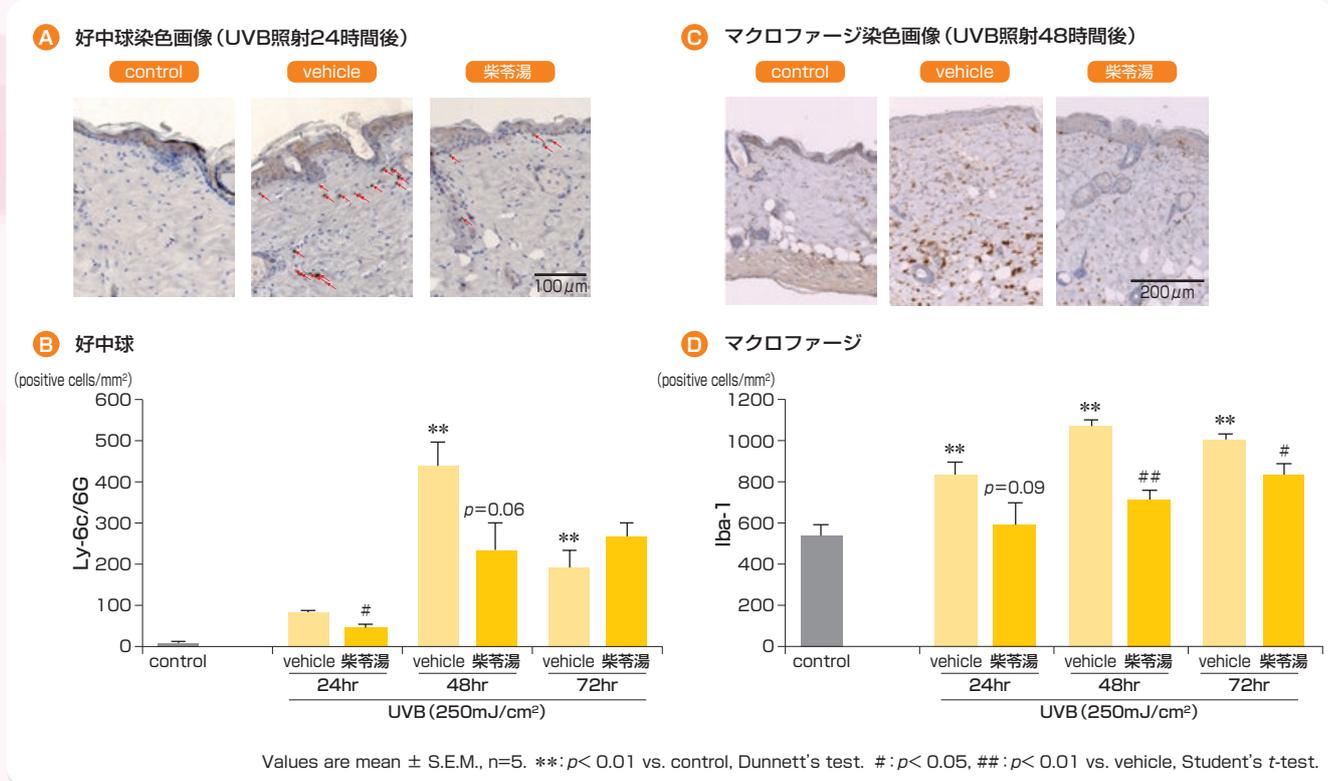
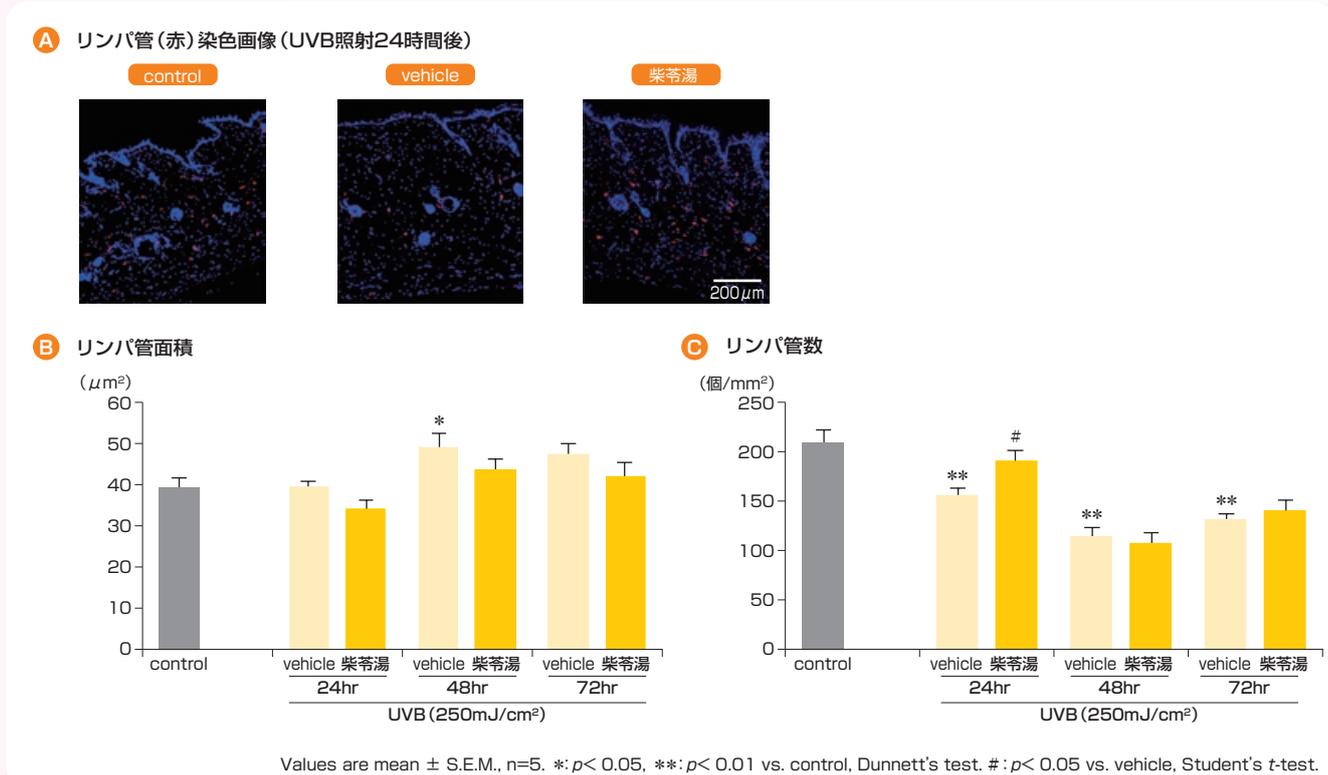


図2 柴苓湯のリンパ管構造に対する効果



間後にvehicle群に対する有意な増加が認められた。

考察とまとめ

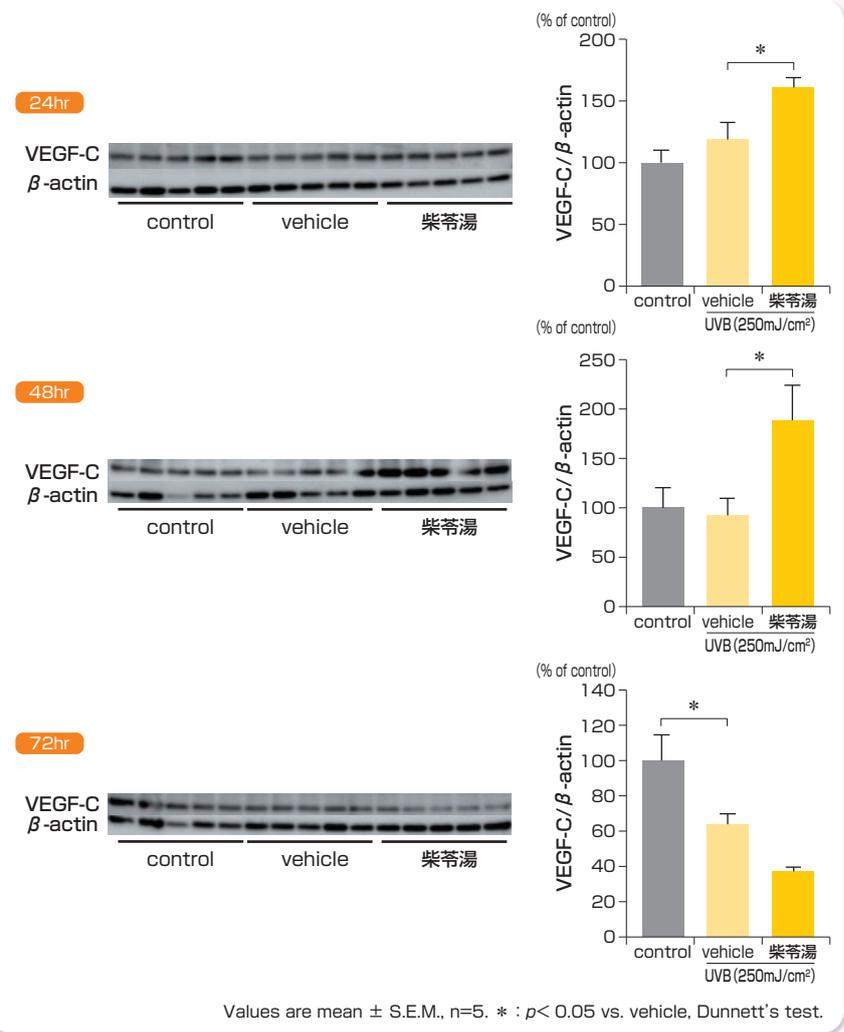
柴苓湯は、臨床研究において放射線治療や手術に伴い誘発されるリンパ浮腫や炎症の改善に有効であることが報告されている^{5, 7)}。われわれの実験においても、柴苓湯投与により、紫外線照射により誘発された皮膚の紅斑および真皮層の肥厚の軽減、コラーゲン量の減少抑制が認められ、柴苓湯が紫外線による皮膚障害を予防することが示唆された⁶⁾。

皮膚に紫外線が照射されると細胞が傷害を受け、炎症反応が惹起されることで血管透過性が亢進し、血液中の水分や炎症性細胞が血管外へ漏出し、浮腫が形成される。通常、血管外へ漏出した水分や炎症性細胞はリンパ管から回収されるが、紫外線はリンパ管機能を低下させることが報告されており^{2, 3)}、これにより浮腫状態の収束遅延が起これると考えられる。また、リンパ管の機能低下により炎症性細胞の回収が遅れることで、コラーゲンをはじめとする細胞外マトリックスへのダメージが深刻化する。このように、紫外線照射による浮腫および炎症の収束においてリンパ管機能が重要な役割を担っている。

本稿では、柴苓湯の紫外線誘発炎症の抑制とリンパ管機能との関連を探るべく、皮膚中のリンパ管構造を解析した。その結果、UVB照射24時間後に柴苓湯群でvehicle群に対するリンパ管数の増加が認められた(図2)。また、リンパ管新生の関連因子であるVEGF-Cの発現量を測定したところ、柴苓湯の投与により、VEGF-Cの発現量の増加が認められた(図3)。過去の報告で、紫外線照射モデルにおいて、VEGF-Cの皮内投与によりリンパ管数が増加し、皮膚の肥厚とマクロファージの浸潤が抑制されることが明らかにされている⁸⁾。本試験においても、柴苓湯群でマクロファージや好中球の血管外への浸潤抑制が認められたことから(図1)、柴苓湯が紫外線照射後の早期の段階でVEGF-Cを介して、リンパ管機能を亢進することで、細胞外の過剰な水分や炎症性細胞が回収され、真皮層の肥厚やコラーゲン量の減少が抑制された可能性が示唆された。

本稿の研究結果より、柴苓湯による紫外線誘発炎症に対する抑制メカニズムの一端として、紫外線照射後の早期に

図3 柴苓湯のVEGF-C発現量に対する効果



おけるリンパ管機能亢進が関与していることが示唆された。柴苓湯を服用することでリンパ管機能が向上し、炎症に伴う不快症状からの早期の回復、ひいては光老化や皮膚癌のリスクの軽減につながる事が期待される。また、今回示唆された柴苓湯によるリンパ管機能向上は、浮腫を伴う炎症性疾患に対して柴苓湯が有効な治療薬となり得る可能性を示した。

【参考文献】

- 1) Kataru R.P et al.: Critical role of CD11b+ macrophages and VEGF in inflammatory lymphangiogenesis, antigen clearance, and inflammation resolution. *Blood* 113: 5650-5659
- 2) 加治屋健太郎 ほか: リンパ管の機能低下が引き起こすしわ形成メカニズムの解明とその薬剤開発. *日本化粧品技術者会誌* 43: 192-196, 2009
- 3) Kajiya K, Hirakawa S, Detmar M.: Vascular endothelial growth factor-A mediates ultraviolet B-induced impairment of lymphatic vessel function. *Am J Pathol* 169: 1496-1503, 2006
- 4) Kajiya K, Detmar M.: An important role of lymphatic vessels in the control of UVB-induced edema formation and inflammation. *J Invest Dermatol* 126: 919-921, 2006
- 5) Nagai A, Shibamoto Y, Ogawa K.: Therapeutic effects of saireito (chai-ling-tang), a traditional Japanese herbal medicine, on lymphedema caused by radiotherapy: a case series study. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013. 2013: 241629.
- 6) 尾山真菜実 ほか: 紫外線誘発性皮膚炎症に対する柴苓湯の有効性. *phil漢方* 76: 28-30, 2019
- 7) Kishida Y, et al.: Therapeutic effects of Saireito (TJ-114), a traditional Japanese herbal medicine, on postoperative edema and inflammation after total hip arthroplasty. *Phytomedicine* 14: 581-583, 2007
- 8) Kajiya K, et al.: Activation of the VEGFR-3 pathway by VEGF-C attenuates UVB-induced edema formation and skin inflammation by promoting lymphangiogenesis. *J Invest Dermatol* 129: 1292-1298, 2009