

日本財団補助金による

1998年度日中医学協力事業報告書

—調査・共同研究に対する助成—

1998年 3月 15日

財団法人 日中医学協会

理事長 中島章殿

研究代表者氏名 池島 喬   
所属機関名 長春中医学院附属医院  
職 名 教授 年齢 51 才  
所 在 地 〒130021 中国吉林省長春市工農大路 20 号  
電話 0431-5634444 内線 \_\_\_\_\_

1. 研究課題

サイトカイン産生調節機能を有する中国独特薬の探査と  
其の炎症性疾患、動脈硬化への影響

2. 研究期間 自 1998 年 10 月 1 日 ~ 至 1999 年 3 月 15 日

3. 研究組織

日本側研究者氏名 池島 喬 ( 51才 )  
所属機関 長春中医学院附属医院 職名 教授  
中国側研究者氏名 王 本祥 ( 62才 )  
所属機関 長春中医学院附属医院 職名 教授

4. 研究報告

別添書式を参考に、報告本文4000字以上で作成して下さい (枚数自由・ワープロ使用)

研究成果の発表予定がある場合は発表原稿・抄録集等を添付して下さい。

論文発表に当たっては、日中医学協会—日本財団補助金による旨を明記して下さい。

# サイトカイン産生調節能を有する中国独特薬の探査とその炎症性疾患、動脈硬化への影響

池島 喬

長春中医学院附属医院急症薬物研究中心  
教授

## 要旨

中国で伝統的に使用されて来た自然薬による抗炎症効果をヒト炎症性サイトカインの産生及び活性の制御の面から検討した。蜂毒は内毒素投与によるラットの体温上昇を有為に抑制するが、それは炎症性サイトカインの産生の直接的な抑制を介していない事が *in vitro* の実験結果から示唆された。慢性腎炎治療薬である「益気血活血複方」はその構成単方である黄耆により IL-1 $\alpha$ と TNF $\alpha$ の産生を抑制する事により抗炎症薬効を発揮すると思われるがその抑制メカニズムは各サイトカインによって異なる。黄耆は炎症性サイトカインによる他種の炎症性サイトカインの誘導という、炎症における「雪崩現象」の抑制には関与せず、免疫細胞刺激物質による炎症性サイトカインの産生を直接抑制する。また特定の癌細胞に対しアポトーシス（計画死）誘導効果をも有する。淫羊かくのサポニン（icariin）の体内代謝産物であり且つ薬効主体である baohuoside は免疫細胞が已に毒素などで刺激されていた場合は炎症性サイトカインの産生の抑制を、刺激されていない場合は産生の亢進をもたらし、中国自然薬の逆二方向性の薬効を示唆する。

また中国に多い寄生虫である脳囊虫の簡易診断法の開発も同時に手掛けており、約 90%以上の診断確率を得た。

## KEY WORDS

炎症性サイトカイン、IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , 中国自然薬、漢方複方、蜂毒、黄耆、アポトーシス、脳囊虫症簡易診断法

# I. 蜂毒による炎症性サイトカイン産生制御と抗炎症作用の関係に関する研究

## 目的

中国自然薬のサイトカイン産生への関与を探る

## 材料及び方法

蜂毒を DFCII 型電子蜂毒採集器(吉林省)を用いて採取精製した。Wister rat における内毒素 (LPS) による直腸体温の上昇に対する蜂毒の効果を電子体温計で測定した。また炎症性サイトカインの代表としての IL-1 $\beta$ による体温上昇の誘発に対する蜂毒の影響も試みた。更に副腎摘出ラットへの LPS による体温上昇に対する蜂毒の影響を調べた。LPS によるヒト末梢血単核細胞 (PBMC)からの各種炎症性サイトカイン (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ) の産生分泌に対する蜂毒の影響をラジオイムノアッセイ法 (RIA)で測定した。

## 結果

100  $\mu$ g/kg 体重量の LPS をラットに腹腔内投与すると 60 分後から 240 分後にかけて 1.5 から 2  $^{\circ}$ C の直腸体温の上昇が観察された。LPS 投与 30 分前に蜂毒を投与しておくくと蜂毒投与量依存的に体温上昇は抑制され、6 mg/kg 体重量投与量では体温上昇の完全な抑制が見られた。即ち蜂毒は抗炎症作用が有る事が分かった。体温上昇の主な原因となる内因性サイトカインの一種である (ヒト) IL-1 $\beta$ のラットへの 100  $\mu$ g/ml 投与では投与後 10 分以内に体温上昇が開始されたが、蜂毒は如何なる投与量においても体温上昇を抑制しなかった。即ち蜂毒は炎症性サイトカインの活性には関与していない可能性が高い。ヒト末梢血培養に 1, 10, 100, 1,000 ng/ml の LPS をそれぞれ添加すると IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ の産生は LPS 濃度依存的に上昇したが、蜂毒の添加は LPS によるこれらの炎症性サイトカインの産生量に影響しなかった。天然の抗炎症物質である IL-1 レセプターアンタゴニスト (IL-1ra) は LPS 濃度に関係なく一定量の産生が認められたが、蜂毒は IL-1ra の産生量にも変化をもたらさなかった。故に蜂毒は *in vitro* では炎症性サイトカインの産生に影響しない。炎症性サイトカイン産生抑制能を有する副腎皮質ホルモンの産生へ蜂毒が影響する可能性を考えて副腎摘出ラットを用いて実験を行った。副腎摘出ラットに対して 100  $\mu$ g/kg LPS を腹腔内に注射し、LPS 誘起性の体温上

昇に対する蜂毒の抑制効果の減少を得る事を試みたが副腎摘出ラットはLPSに対する発熱反応が低く、顕著な結果を得ることは出来なかった。

## 考察

IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ 等の炎症性サイトカインは発熱、火傷、細菌感染症、リュウマチ性関節炎を含む炎症性疾患に対してその症状の発現に大きく関与している。蜂毒がリュウマチ性関節炎に治療効果を有する事は古来中国で伝えられている事である。しかし蜂毒はin vivo (ラット)においてこれらの炎症性発熱を抑制してもヒトin vitro 実験において炎症性サイトカインの産生を抑制しなかった。いまだ、蜂毒によるサイトカイン抑制性副腎皮質ホルモンの分泌亢進効果の可能性は有るものの、蜂毒の抗炎症作用は数編の論文で記載されているような炎症性サイトカインの産生の直接的抑制ではなく、他の免疫機構を介して行われているものと推定する。

## 参考文献

- 1) Hadjipetrou-Kourounakis L. and Yiangou M.  
*J. Rheumatol. 15(7):1126-1128,1988*
- 2) Panush RS.  
*J. Rheumatol. 15(10):1461-1462,1988*
- 3) McHugh S.M. et al.,  
*Clinic. Exp. Allergy 25:828-838,1995*

## II. 「中薬益気血活血複方」のサイトカイン産生に対する影響

### 目的

中医慢性腎炎治療薬の炎症性サイトカイン産生に対する影響を調べる

### 材料及び方法

長春中医学院第五内科 (朴志賢教授) で慢性腎炎患者に投与している複方 (当

帰、黄耆、益母草、丹参、桃仁、紅花) 及び各単方の水煎剤を遠心濾過して使用した。 ヒト末梢白血球から Ficoll-Hypaque 組織分離液を用いて単核細胞を得た。 複方もしくは各単方を加えて後、LPS を加えて培養、ラジオイムノアッセイを用いてヒト IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ 量を測定、また RT-PCR を用いて各炎症性サイトカインの mRNA の産生を観察した。

## 結果

患者投与用の複方の 20 倍希釈液をヒト末梢単核細胞培養に加えると、IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ の産生を顕著に抑制したが、この薬剤投与量では末梢白血球細胞に対する毒性は認められなかった。また各単剤においては当帰、益母草、黄耆が TNF $\alpha$ の産生を顕著に抑制した。特に黄耆は IL-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$ の蛋白質産生を抑制した。RT-PCR において複方及び黄耆は TNF $\alpha$  mRNA の産生を完全に抑制したが IL-1 $\alpha$  mRNA の産生には影響しなかった。

## 考察

抗慢性腎炎中薬「益気養血活血複方」は IL-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$ 等の炎症性サイトカイン産生を抑制することによって抗炎症効果を発揮する可能性が高い。しかしそのサイトカイン産生抑制の機作は各サイトカインによって異なっており、IL-1 $\alpha$ の産生は IL-1 $\alpha$ 遺伝子の転写後 (posttranscriptional), TNF $\alpha$ の産生は TNF $\alpha$ 遺伝子の発現(transcriptional)時に制御されていると思われる。また免疫亢進剤と思われている黄耆に抗炎症効果が認められた。

## 参考文献

Zhao KW and Kong HY

中国中西医結合雑誌 13(5):263-265, 1993

### Ⅲ. 炎症性サイトカインによる炎症性サイトカインの産生誘導に対する黄耆の影響

## 目的

炎症には炎症性サイトカインが炎症性サイトカインを誘導して炎症の増悪

化の原因になることが多い。黄耆の抗炎症作用はこのステップに関与しているかどうか調べてみた。

## 材料及び方法

A375-S2 ヒト黒色腫、L929 マウス肺上皮癌細胞、T98G ヒト神経膠細胞培養に黄耆水煎剤及び黄耆多糖を 0.001-1 mg/ml 濃度で加え、IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  (100 ng/ml)による他種の炎症性サイトカインの誘導をラジオイムノアッセイで測定した。

## 結果

如何なる濃度に於いても黄耆水煎剤及び黄耆多糖は IL-1 $\beta$ 或は TNF $\alpha$  による T98G 細胞からの IL-6 及び IL-8 の産生分泌量に影響を与えなかった。また IL-1 特異的な細胞死をする A375-S2 細胞に黄耆水煎剤或は黄耆多糖を添加しても IL-1 による A375-S2 細胞の細胞死は阻害されなかった。

## 考察

黄耆による炎症性サイトカインの産生抑制は内毒素等の免疫亢進物質によるサイトカイン産生誘導の過程に働くのであって、以後の過程である炎症性サイトカインによる炎症性サイトカインの産生誘導を抑制するのではない。またこの実験で黄耆成分が或る特定の腫瘍細胞株 (A375-S2) に対してアポトーシス (プログラムされた細胞死) を誘導する予備的知見を得た。

## 参考文献

- 1) Dinarello CA et al.,  
*J. Immunol.* 139:1902-1910, 1987
- 2) Ikejima T. et al.,  
*J. Infect. Dis.* 1162:215-223, 1990

## IV. 淫羊かくサポニンの代謝産物による炎症性サイトカインの 産生制御

### 目的

淫羊かくサポニンの血清内代謝産物中で免疫亢進効果を有する成分のサイトカイン産生に対する影響を調べた。

### 材料と方法

ヒト組織球由来マクロファージ様細胞である THP-1 を LPS, PMA を用いて刺激した。刺激 30 分前に淫羊かくサポニン icariin 及び其のラット血中またはヒト尿中から分離した、顕著な免疫亢進性を有する代謝産物である baohuoside を THP-1 細胞培養に加え、ラジオイムノアッセイを用いて炎症性サイトカイン (IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ) の産生を比較した。

### 結果

濃度 0.1 若しくは 1  $\mu\text{g/ml}$  baohuoside は LPS, PMA を用いて THP-1 細胞を刺激時、IL-6 の産生を亢進するが、IL-8 の産生は抑制する。しかし LPS, PMA 不存在時、baohuoside は逆に IL-8 の産生を顕著に誘導した。

### 考察

免疫亢進剤淫羊かくは其の血中代謝産物 baohuoside により IL-8 の産生を誘導するが已に他種のマクロファージ刺激が有る時は逆に其の産生を抑制し、逆二方向の薬効を有する事が判明した。多くの漢方薬には濃度依存的若しくは他の薬剤との併用投与により其の薬効が逆転するが無刺激時に baohuoside による IL-8 の産生の顕著な誘導はこれらの現象を一部説明していると思われる。

### 参考文献

- 1) Hattiri M. et al.,  
*Chem. Pharm. Bull.* 33:3838, 1985
- 2) 李書桐 et al.,

## 其他

現在、靈芝、銀耳、人參等の多糖に於ける抗炎症に關した炎症性サイトカインの産生制御の研究を継続中である。

また現時点では日中医学協會からの助成金を使用してはいないが腦囊虫症患者血清中の抗体価を感染豚より分離精製した特異的抗原を用いる事によって測定する簡易診断法（旭川医科大学伊藤亮教授開發）を吉林省長春市と内蒙古通遼市を中心とする農村部患者に予備試験中である。中国では CT スキャン等を用いて確定診断出来る医療施設が少なく、特に囊虫症流行地域である遠隔農村地域の診療施設には診断設備が無きに等しい。また現在中国国内での抗原抗体法による囊虫症診断キットは測定感度が低すぎる。まず、長春近郊の豚屠殺場から感染豚血清及び囊虫胞を入手し、等電電気泳動で抗原を精製分離してから豚血清中の抗体価の存在を確認した。長春市、通遼市周辺の囊虫症（CT 及び視診で確定診断済み）の患者血清を検定した。簡易血清診断法と確定診断とは約 90%の相関性が得られた。皮膚表面などにまだ虫体が顕在する以前の初期感染症患者への診断及び早期治療に応用出来るものと期待している。

## 参考文献

- 1) Ma L. et al.,  
*Transac. Royal Soc, Tropic. Med. Hygiene* 91:476-478, 1997
- 2) Simanjuntak GM. Et al.,  
*Immunol. Today* 13:321-323, 1997