

天然薬物の免疫調節作用

稲垣 直樹, 高 鑫坤, 田中 宏幸, 永井 博式

要約: NC/Nga マウスの耳殻皮膚に、テープストリッピングとダニ抗原溶液の塗布を繰り返すと、血中 IgE の上昇、インターロイキン-4 (IL-4) mRNA 発現の増大およびインターフェロン- γ (IFN- γ) mRNA 発現の減弱を伴う耳殻腫脹が誘発される。病理組織学的検討では表皮の肥厚、真皮の腫脹、炎症細胞の集積などの炎症の徴候が認められる。アトピー性皮膚炎に有効性を示す漢方方剤の十全大補湯、補中益気湯、消風散および黄連解毒湯は、IL-4 mRNA 発現の増大および IFN- γ mRNA 発現の減弱を回復させる傾向を示し、耳殻腫脹とともに組織学的な炎症の徴候を抑制する。したがって、これらの方剤は Th1/Th2 バランスを矯正することによってアトピー性皮膚炎に対して治療効果を発揮する可能性が示唆される。

はじめに

古くから用いられてきた漢方薬は急性的な症状よりはむしろ慢性的な病態に有効性が期待できるとされており、近年増加しているアレルギー疾患を含む慢性、難治性疾患に対する有効性が期待されている。また、漢方では個々の患者の体質、あるいは状態を「証」として捉え、「証」に基づいて処方が決められ、患者の状態の変化に応じて処方の変更、加減される。すなわち、漢方では現在の医療が目指す「個の医療」が実践されてきたと考えることができる。一方、漢方では複数の生薬を方剤として組み合わせる用いることが多く、極めて多種類の成分が含まれることになり、有効成分の同定はしばしば困難である。西洋医学は有効成分の同定と作用機序の解明を求めてきたが、近年では、漢方薬を多成分系として捉えて臨床的、基礎的に再評価し、有効性を科学的に検証するようになってきた(1)。本稿では、アトピー性皮膚炎治療に用いられる4種の

漢方方剤、十全大補湯、補中益気湯、消風散および黄連解毒湯の有効性を、マウスアレルギー性皮膚炎を用いて基礎的に検討した成績を紹介する。

1. マウスアトピー性皮膚炎の病態モデルの作成

アトピー性皮膚炎は増悪と緩解とを繰り返す、掻痒を伴う湿疹を主病変とする疾患であり、患者の多くはアトピー素因を有する(2)。病態は極めて複雑であり、掻痒、特徴的な湿疹とその分布、慢性・反復性の経過の有無を基に、他の皮膚疾患を除外することによって診断される。従来、遺伝的因子、すなわちアトピー素因の発症における重要性が指摘されており、気管支喘息、アレルギー性鼻炎・結膜炎、アトピー性皮膚炎の家族歴、既往歴あるいは合併の有無は重要な診断情報であり、約80%の患者で血中IgEが高値を示すことも特徴の一つである。また、発症には環境因子も重要な役割を演じると推定され、特に近年の成人重症例の増加にも環境因子の関与が大きいと思われる。

疾病の基礎研究に、病態を反映する優れた動物モデルが利用できるか否かは、研究成果に大きな相違を生じる。ヒトの疾患の病態を実験動物に再現することは容易ではないが、特徴のいくつかを反映するモデルを作成することは可能である。アトピー性皮膚炎の病態モデルとしては、これまでに、抗原をマウス皮膚に反復暴露し、表皮の肥厚、真皮の腫脹、好酸球やリンパ球の炎症部位への浸潤、肥満細胞の増多などの組織学的特徴、および血中IgEの上昇、炎症部位でのTh2サイトカインの発現などの免疫学的特徴を有する皮膚炎モデルが多数報告されている(3-6)。また、病態を自然発症するモデル(7-9)、遺伝子改変によって特徴的な病変を発症するマウス(10-12)なども知られている。臨床に即したモデルを作成する場合には、アトピー

キーワード: アレルギー性皮膚炎, マウス病態モデル, 漢方方剤, Th1/Th2 バランス, 免疫調節
岐阜薬科大学機能分子学大講座薬理学研究室 (〒502-8585 岐阜市三田洞東 5-6-1)
e-mail: inagakin@gifu-pu.ac.jp 原稿受領日: 2008 年 1 月 24 日, 依頼原稿

Title: Regulation of allergic responses by Kampo medicines. Author: Naoki Inagaki, Xiu Kun Gao, Hiroyuki Tanaka, Hiroichi Nagai

一性皮膚炎の慢性的で複雑な病態を再現するために抗原を反復曝露することは重要であると考えられ、経皮的に抗原を曝露することは皮膚のバリア機構や皮膚免疫機構との関わりを解析する上で意義があると思われる。優れた病態モデルの確立は極めて重要である。

2. ダニ抗原溶液反復塗布による NC/Nga マウスのアレルギー性皮膚炎

NC/Nga マウスはコンベンショナル環境下に飼育するとヒトアトピー性皮膚炎に類似した皮膚炎を自然発症し、血中 IgE の上昇とともに激しい掻破行動が出現する(7, 13)ことから、アトピー性皮膚炎の基礎研究に繁用されている。アトピー性皮膚炎の病態を再現するモデルとして極めて興味深い、吸血性のダニの寄生によって発症すると考えられ、コンベンショナル環境下においても発症が不確実であることが知られている。人為的にダニを定着させることによって皮膚炎を発症させることができ、これも皮膚炎モデルとして研究に用いられているが、一般の飼育施設では扱いにくい場合が少なくない。また、発症までに時間を要すること、発症時期、程度をそろえることが困難であることなど、薬理的検討においても工夫を要する側面をもつ。一方、ヒトのアトピー性皮膚炎の発症には

代表的な吸入抗原であるヒョウヒダニ抗原が関与することが示唆されている(14, 15)。そこで、皮膚炎発症に有利な特徴を有すると推定される NC/Nga マウスを用い、マウスの耳殻にダニ抗原（コナヒョウヒダニ粗抽出物、鳥居薬品、東京）溶液を反復塗布することによって皮膚炎の誘発を試みた(16)。

アトピー性皮膚炎患者皮膚ではセラミド含量が低下しており(17, 18)、乾燥傾向にあるため、様々な刺激を受けやすいと考えられている。また、皮膚病変部では掻破によってバリア機構が傷害されている。NC/Nga マウス皮膚においても構成脂質の含量に変異が見られる(19)が、アトピー性皮膚炎患者病変部皮膚の状態を再現するため、NC/Nga マウス両耳殻皮膚の角質層の表層をサージカルテープを用いたストリッピングによって除去した後にダニ抗原溶液を塗布した。なお、テープストリッピングが Th2 優位なサイトカイン応答の誘導に有用であることも知られている(20)。ダニ抗原は Tween20 を 0.5% 含有するリン酸緩衝化生理食塩水にタンパク量で 10 mg/ml となるように溶解し、両耳殻の表裏に 25 μ l ずつ、計 100 μ l を塗布した。テープによる角質層除去と抗原溶液塗布は 7 日間隔で 5 回繰り返し、誘発される皮膚炎は耳殻腫脹、血中総 IgE レベル、サイトカイン mRNA 発現および組織学

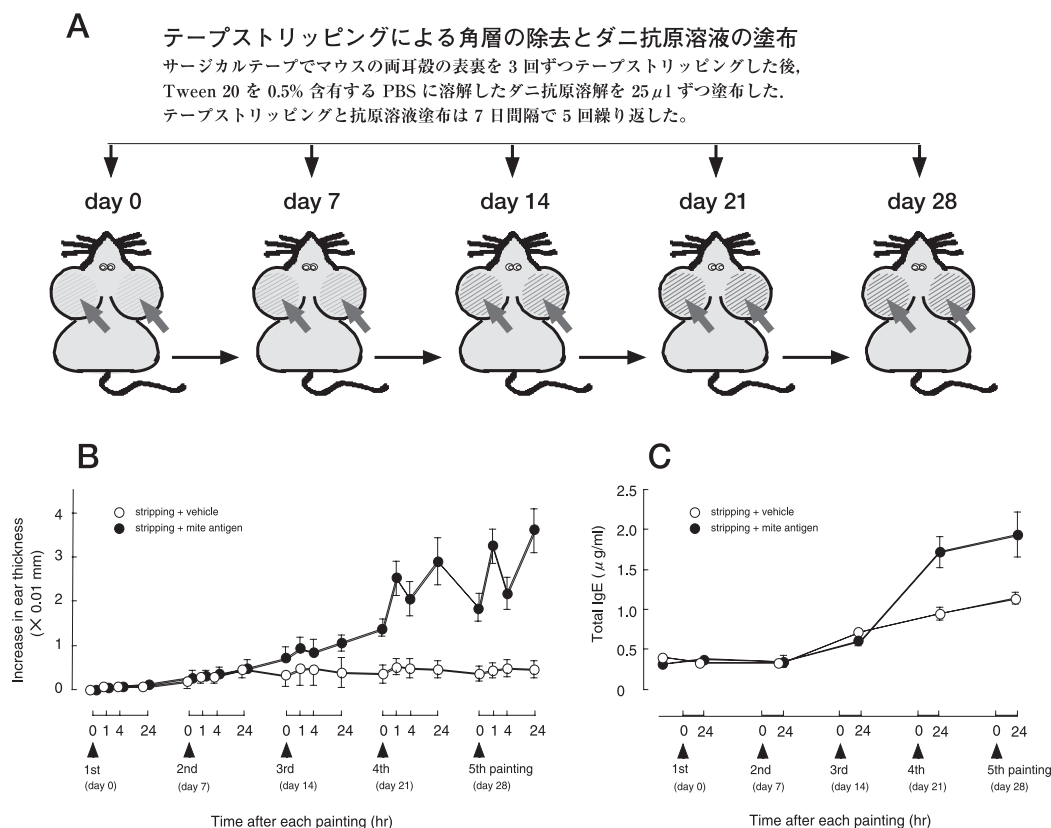


図1 ダニ抗原溶液反復塗布によるマウス皮膚炎の誘発 (日薬理誌, 2006;127(2):110 より転載)

A. 誘発方法。図中の矢印は抗原溶液塗布部位を示す。B. ダニ抗原溶液反復塗布による耳殻腫脹の経時変化。平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n = 5-8$)。C. 血中総 IgE レベルの経時変化。平均値 $\pm$ 標準誤差 ($n = 5-8$)

的検討によって評価した。皮膚炎誘発のプロトコールを図1Aに示す。

テープストリッピングによる角質層除去と抗原溶液塗布を繰り返すと、3回目の抗原溶液塗布後には軽度の耳殻腫脹が出現し、4回目および5回目の塗布後には、塗布1時間後および24時間後にピークを有する二相性の顕著な腫脹が出現する(図1B)。したがって、塗布したダニ抗原が経皮的に浸透した結果として感作が成立するものと推定される。実際に、4回目の抗原溶液塗布前後から血中総IgEレベルの上昇も認められる(図1C)ことから、4回目および5回目の塗布後の耳殻腫脹にはIgEも関与するものと推定される。5回目の塗布24時間後の耳殻組織では、顕著な表皮の肥厚、真皮の腫脹および線維化、リンパ球、好酸球、好中球などの炎症性細胞の浸潤が認められる。また、耳殻組織および頸部リンパ節ではダニ抗原溶液の反復塗布によってインターロイキン-4(IL-4)mRNA発現が誘導されるが、興味深いことにインターフェロン- γ (IFN- γ)mRNA発現は減弱する。IL-4およびIFN- γ はそれぞれ代表的なTh2およびTh1サイトカインであるところから、NC/Ngaマウス皮膚へのダニ抗原の反復曝露はTh1/Th2バランスをTh2優位な状態へ移行させるものと推定される。これらの特徴はアトピー性皮膚炎の病態の一側面を反映するものと考えられる。

一方、掻痒はアトピー性皮膚炎のもっとも重要な症状であり、掻破行動を指標とした掻痒の評価は重要であると考えられるが、本皮膚炎モデルでは、出現する掻破行動の頻度は高くはない。Matsuokaらはコナヒョウヒダニ粗抗原エキスの反復塗布によって誘発したNC/Ngaマウス皮膚炎モデルにおいて、抗原エキスを塗布後15分間の掻破行動を実際に評価している(21)。Matsuokaらの成績との相違は使用した抗原の調製法の違い、および抗原曝露の頻度、間隔の違いによるものと推定される。痒みの指標としての掻破行動はアトピー性皮膚炎モデルを評価する際の重要な指標の一つであると思われる。

3. ダニ抗原反復塗布によるアレルギー性皮膚炎に対する漢方方剤の抑制効果

補剤と呼ばれる漢方方剤は、病後、術後、慢性疾患などで低下した体力、気力を回復する効果を有するが、代表的な補剤である十全大補湯および補中益気湯は免疫応答を調節する作用も有しており(22-26)、アトピー性皮膚炎治療に有効性を示すことが報告されている。両補剤は熱のないアトピー性皮膚炎患者に有用とされ

るが、特に補中益気湯は皮膚病変が乾燥している患者に適するという。また、消風散および黄連解毒湯にもアトピー性皮膚炎治療効果が示唆されている。消風散は痒みを伴う病態に適用される方剤であり、湿疹、蕁麻疹、アトピー性皮膚炎、神経性皮膚炎、皮膚掻痒症、薬物性皮膚炎などに用いられる。黄連解毒湯は渗出物が多く、皮膚潮紅、掻痒などの湿熱症状を伴う湿疹、アトピー性皮膚炎、膿疱瘡などに用いられる。そこで、これらの4方剤のアトピー性皮膚炎治療効果を基礎的に裏付けるため、ダニ抗原反復塗布によって誘発するマウスアレルギー性皮膚炎に対する抑制効果を検討した(27)。各方剤の抽出エキス(株式会社ツムラ、東京)は精製水に溶解し、全実験期間にわたって1日1回、100および300mg/kgの用量を経口投与した。対照薬としてプレドニソロンを用い、3mg/kgの用量を同様に投与した。

いずれの方剤も、ダニ抗原溶液の4回目および5回目の塗布によって誘発される耳殻腫脹を明らかに軽減し、また、5回目の抗原溶液塗布24時間後の組織学的検討の結果から、表皮の肥厚、真皮の腫脹、炎症性細胞の浸潤などの炎症の徴候を抑制する。したがって、これらの方剤はいずれもアレルギー性炎症に対して抑制効果を示すものと推定される。しかし、十全大補湯および補中益気湯は血中総IgEの上昇を抑制するが、消風散および黄連解毒湯には明らかな抑制作用は認められない。一方、ダニ抗原溶液の反復塗布は皮膚炎症部位および頸部リンパ節のTh1/Th2バランスをTh2優位な状態へ移行させるが、検討した4方剤はいずれもバランスの移行を抑制する傾向を示す。すなわち、皮膚炎に伴って減弱するIFN- γ mRNA発現を増強し、増大するIL-4mRNA発現を抑制する傾向を示す。したがって、これらの方剤のアトピー性皮膚炎治療効果の発現には、Th2優位な状態へ偏倚したTh1/Th2バランスを矯正する作用が関わっているものと推定される。補中益気湯の耳殻腫脹、血中IgEおよびサイトカインmRNA発現に及ぼす影響を検討した成績を図2に示す。

NC/Ngaマウスの自然発症の皮膚炎の誘因はダニの寄生であると考えられるが、代表的な吸入アレルゲンであるヒョウヒダニ抽出物の反復経皮曝露がNC/NgaマウスにTh2優位な皮膚炎を誘発することから、NC/Ngaマウスとダニ抗原とはアレルギーの病態モデルを作成するのに適した組み合わせであると推定される(21,28)。また、アトピー性皮膚炎に有効性を示す4種の漢方方剤がダニ抗原反復塗布によるNC/Ngaマウスアレルギー性皮膚炎に対して抑制作用を示すこ

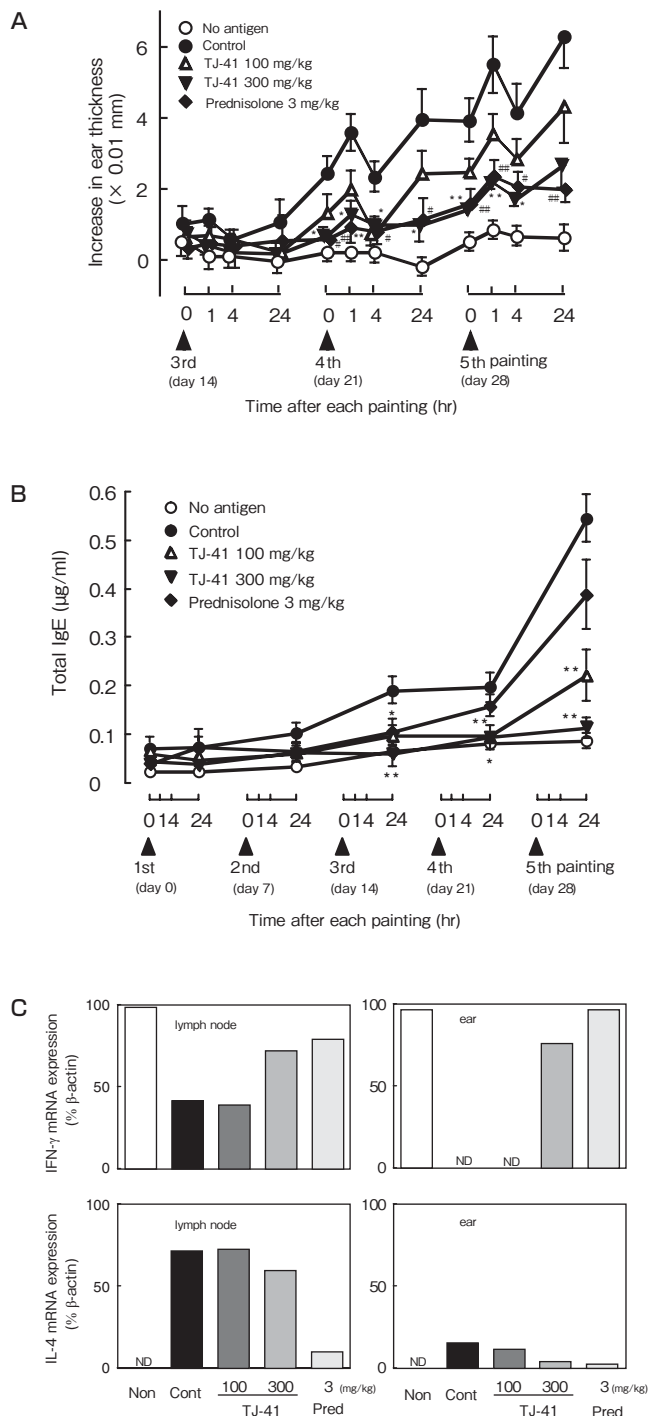


図2 補中益気湯 (TJ-41) および prednisolone の耳殻腫脹, 血中 IgE およびサイトカイン mRNA 発現に及ぼす影響 (文献 27 より改変)

A. 耳殻腫脹に及ぼす影響. 平均値士標準誤差 ($n = 5-8$), $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $^{\#}P < 0.05$, $^{\#*}P < 0.01$. B. 血中総 IgE レベルの経時変化. 平均値士標準誤差 ($n = 5-8$), $*P < 0.05$, $**P < 0.01$. C. サイトカイン mRNA 発現に及ぼす影響.

とから, ダニ抗原を反復塗布して誘発する NC/Nga マウスの皮膚炎が薬理学的にもアトピー性皮膚炎のモデルとして有用であることを示唆する. 一方, 前述のように, 漢方方剤は患者の「証」に基づいて選択され, 診断名が同一であっても異なった「証」の患者には異なった方剤が選択される. マウスの病態モデルにおい

て「証」を論じることは困難であるが, 特徴を異にする 4 方剤がマウス皮膚炎に対して類似の抑制効果を示すことから, 「証」が異なる場合でも, アトピー性皮膚炎の病態形成には共通の機序が存在し, 4 方剤がその共通の機序に対して抑制効果を示す可能性が推定される. アトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー疾患においては, Th1/Th2 バランスが Th2 優位な状態に偏倚しているとされる (29, 30). アレルギー疾患の病態の特徴を Th1/Th2 バランスのみで論じることは適切ではないと考えられるが, 4 方剤による Th1 応答の増強および Th2 応答の制御が, アトピー性皮膚炎に対する有効性に寄与する可能性が示唆される.

おわりに

漢方薬はアレルギー疾患をはじめとする慢性疾患の治療に有用であるとされる. アレルギー疾患では緩解期と有症期とが繰返されることが多く, 有症期における症状軽減のための治療はもとより, 緩解期における症状再発を予防する処置も重要であり, いずれにも漢方薬が有効性を示す可能性が期待される. 一方, 漢方では疾病発症前の状態を「未病」と称し, 発病を予防するという考え方がある. アレルギー疾患の場合に「未病」をどのように捉えるかは難しいが, 漢方薬を用い, 発病前から積極的な予防対策を講じることが可能になることも期待したい.

文 献

- 1) Terasawa K, et al. CAM. 2004;1:219-222.
- 2) Furue M, et al. Jpn J Dermatol. 2004;114:135-142.
- 3) Kitagaki H, et al. J Invest Dermatol. 1995;105:749-755.
- 4) Kitagaki H, et al. J Immunol. 1997;159:2484-2491.
- 5) Nagai H, et al. J Allergy Clin Immunol. 1997;100:S39-44.
- 6) Nagai H, et al. J Pharmacol Exp Ther. 1997;283:321-327.
- 7) Matsuda H, et al. Int Immunol. 1997;9:461-466.
- 8) Horikawa I, et al. J Dermatol Sci. 2002;30:142-153.
- 9) Watanabe O, et al. J Hum Genet. 1999;44:173-176.
- 10) Tsukuba T, et al. J Biochem. 2003;134:893-902.
- 11) Konishi H, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2002;99:11340-11345.
- 12) Sonkoly E, et al. J Allergy Clin Immunol. 2006;117:411-417.
- 13) Suto H, et al. Int Arch Allergy Immunol. 1999;120 Suppl:70-75.
- 14) Tupker RA, et al. Allergy. 1998;53:92-96.
- 15) Kerschenlohr K, et al. Curr Allergy Asthma Rep. 2004;4:285-289.
- 16) Gao XK, et al. Biol Pharm Bull. 2004;27:1376-1381.
- 17) Yamamoto A, et al. Arch Dermatol Res. 1991;283:219-223.
- 18) Imokawa G, et al. J Invest Dermatol. 1991;96:523-526.
- 19) Aioi A, et al. Br J Dermatol. 2001;144:12-18.
- 20) Kondo H, et al. Eur J Immunol. 1998;28:769-779.
- 21) Matsuoka H, et al. Allergy. 2003;58:139-145.
- 22) Iijima K, et al. Am J Clin Med. 1999;27:191-203.
- 23) Matsumoto T, et al. Phytomedicine. 2000;6:425-430.
- 24) Ishimitsu R, et al. Int Immunopharmacol. 2001;1:857-865.
- 25) Kaneko M, et al. Immunopharmacol. 1997;36:79-85.
- 26) Yamaoka Y, et al. Immunopharmacol. 1998;39:215-223.
- 27) Gao XK, et al. eCAM. 2005;2:191-199.
- 28) Shibamori M, et al. Life Sci. 2006;78:987-994.
- 29) Singh VK, et al. Immunol Res. 1999;20:147-161.
- 30) Romagnani S. J Allergy Clin Immunol. 2004;113:395-400.