

気管支喘息小児の末梢血リンパ球におけるダニ抗原特異的 IL2反応性誘導に与える漢方方剤；柴朴湯，小青竜湯， 及び柴苓湯の処理効果及びその比較検討

¹⁾埼玉医科大学小児科，²⁾防衛医科大学小児科，³⁾同愛記念病院小児科

野間 剛¹⁾ 中島 忠¹⁾ 川野 豊¹⁾

吉沢いづみ¹⁾ 冠木智之²⁾ 馬場 実³⁾

特異抗原刺激により活性化された T 細胞の IL2(interleukin 2) に対する反応性の獲得は，アレルギー疾患の病因抗原の検索や病勢の把握に有用である。気管支喘息小児末梢血リンパ球のダニ抗原特異的 IL2 誘導に与える抗アレルギー漢方方剤，柴朴湯，小青竜湯，及び柴苓湯の，*in vitro* での処理効果について比較検討をおこなった。柴朴湯では $3 \times 10^{-2} \sim 3 \times 10^1 \mu\text{g/ml}$ の濃度で処理することにより，11 例中 8 例 (73%) の処理において IL2 反応性の抑制を認めた。小青竜湯では， $3 \times 10^1 \mu\text{g/ml}$ の濃度で処理することにより 10 例中 6 例 (60%) の症例で抑制を認めたが，その抑制頻度は柴朴湯に比較して低かった。柴苓湯では，検査した $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^1 \mu\text{g/ml}$ 濃度のうち $1 \times 10^{-2} \mu\text{g/ml}$ の濃度で抑制作用を認めたが，その抑制は，35% (6/17) と他剤に比較してその頻度と程度が低かった。これらの抑制作用は，Con A により誘導される反応では認められなかった。また，PPD により誘導される反応は，小青竜湯では抑制作用は認められなかったが，柴朴湯，柴苓湯において認められた。これらの方剤の標的細胞はいずれも抗原提示細胞であったが，柴苓湯では T 細胞にも作用して抑制する働きが存在した。いずれも，これらの方剤のもつ軽度の免疫抑制作用により，抗原特異的 IL2 反応性が抑制されると考えられたが，各薬剤とも，方剤を構成する生薬の組合わせとその濃度により，作用効果が少しずつ異なると考えられた。また，いずれの薬剤も高濃度で抑制作用が低下したが，この反応は，むしろ漢方方剤に含まれる各生薬成分が，抗原提示細胞を介して，あるいは，機序は明らかではないが直接的に，T 細胞を活性化作用による可能性が示唆された。

Key words: bronchial asthma — mite antigen-specific IL2 responsiveness — saiboku-to — sairei-to — shouseiryu-to

緒 言

アレルギー疾患においては，マクロファージなどの抗原提示細胞を介し，アレルギーによって活性化されたヘルパー T 細胞は，IL2 を分泌することにより，IL2 反応 T 細胞の増殖を補助し，IL3, IL4, IL5, IL6, IFN- γ などの種々のリンホカインを分泌し，I 型アレルギーの主体をなす IgE 産生細胞，マスト細胞や好酸球の分化増殖，あるいは遅延型過敏反応誘導 T 細胞を活性化する^{1)–3)}。アレルギーにより誘導される活性化 T 細胞の存在の程度を知ることは，アレルギー反応の誘導機構を，細胞レベルで理解するうえで重要である^{4)–7)}。ア

レルゲン刺激で誘導される T 細胞の IL2 反応性の獲得を，アレルギー反応における免疫学的指標としてとらえ，我々はすでに，ダニ抗原で感作されている気管支喘息児や，卵白抗原で感作されているアトピー性皮膚炎患児では，それぞれの病因抗原刺激により，特異的にリンパ球の IL2 反応性が誘導され，これらの *in vitro* の測定系が，アレルギー性疾患の原因抗原の検索や病勢の把握に有用であることを報告した^{4)–8)}。一方，各種抗アレルギー剤の開発に伴い柴朴湯，小青竜湯などの漢方方剤も抗アレルギー作用を有することが知られ，臨床の場で広く使用されている^{9)–12)}。抗アレルギー作用を示す柴朴湯の主成分である小柴胡湯を含有する漢方方剤柴苓湯¹³⁾¹⁴⁾を含めて，これらの漢方方剤のダニ抗原特異的 IL2 反応性に対する影響について *in vitro* で比較検討した。

Received: April 25, 1995

Accepted: February 23, 1996

対 象

ダニ抗原 IgE RAST スコアが3あるいは4の1歳から18歳までの気管支喘息患児39名の末梢血単核細胞を用いた。診断は臨床症状、特異的 IgE RAST スコア、皮膚試験、抗原負荷テストの結果を用いて総合的に行った。テオフィリン、 β 刺激剤で治療されている患児を用い、ステロイド剤、漢方方剤、あるいは、他の抗アレルギー剤は、検査時及び、検査前2カ月以上に渡って使用していない症例を用いた。対照として、相当年齢の上記検査項目が陰性である、あるいは、アレルギー症状を示さずかつその既往のない健康小児及び健康成人を用いた。

方 法

1. ダニ抗原特異的 IL2反応性の誘導

患児末梢血より比重遠心法¹⁵⁾で分離した単核細胞 ($1 \times 10^6/\text{ml}$) に $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ のダニ抗原 (Df = *Dermatophagoides farinae*) (鳥居) を添加し、5ml の培養チューブ (ファルコン) を用いて10%ヒトプール血清 (56°C30分非動化) 加 RPMI 1640 メディウムにて5日間培養後、再度細胞数を $2 \times 10^5/0.2\text{ml}$ に調製した後 recombinant IL2 (武田) $0.075\text{U}/150\text{ml}$ を添加し、96穴平底プレートにてさらに3日間培養した後、LSQ medium [lysing staining quenting medium: 2倍希釈 PI stok 液 (1mg/ml propidium iodide in 4.9% EDTA) 1.5ml, EDTA 液 (4.9% pH 7.0) 7.5ml, Triton X-100 (8% U/U) 1.5ml, 2×10^{-5} 希釈 drawing ink (LEIZ) から成る] $150 \mu\text{l}$ を添加後遠心し、37°C, 30分間静置した後蛍光顕微光度計 (Leica MPV-MT2) を用いて各穴中の蛍光量を測定することにより、生細胞数を定量した。さらに、IL2非添加群と比較することにより、以下のごとく IL2反応性 (SI) を評価した⁸⁾。

IL2反応性 (stimulation index; SI) = (IL2添加時蛍光強度 - 細胞非添加時蛍光強度) / (IL2非添加時蛍光強度 - 細胞非添加時蛍光強度)

また、一部の症例では、IL2を添加して3日間培養後生細胞数をトリパンブルー染色法にて算定し、同様にIL2非添加群との比によって、IL2反応性を評価した⁴⁾。また、他の特異抗原あるいは、mitogen によって誘導される IL2反応性に与える漢方方剤の影響について比較検討するため、喘息患児 (ツベルクリン反応陽性)

の単核細胞を同様にして concanavalin A (Con A) 及び purified protein derivatives (PPD) で刺激し、IL2反応性を誘導し評価した。

2. 漢方方剤の処理法

柴朴湯 (ツムラ)、小青竜湯 (ツムラ)、柴苓湯の各エキス原末600mg, 300mg, 100mg を10ml の蒸留水を加えて37°Cで30分攪拌した後 $2000 \times g$ にて10分間遠心し、この上清を pH 7.4 に調整し原液とした。特異抗原で活性化される単核細胞に与える各漢方方剤の影響を検討するため、原液を RPMI 1640 にて各濃度に希釈し、単核細胞 $1 \times 10^6/\text{ml}$ に添加し、37°Cで12時間、前処理した。これらの培養細胞を洗浄したのち、Df 抗原、PPD, Con A を各々添加し IL2反応性を誘導した。抗原添加時に漢方方剤を同時添加した場合、柴朴湯、小青竜湯では抑制を認めた。柴苓湯では抑制を認める症例を認めなかったが、12時間の前処理により抑制を認めた。よって、漢方方剤を比較するために、前処理時間を12時間と設定し、さらに次の標的細胞に関する研究の処理時間としてもちいた。即ち、抗原提示細胞及び T 細胞群それぞれに与える漢方方剤の影響を検討するため、付着細胞を同様に前処理したのち、Df で2時間培養したのち十分に洗浄後 ($\times 3$)、非付着細胞と組合わせ IL2反応性を誘導した。さらに、同様にして IL2反応性 T 細胞群に与える影響について検討するため、あらかじめ Df で刺激された付着細胞を前処理した非付着細胞と組合わせ、誘導される IL2反応性を評価した。

3. 統計学的処理

得られた成績は対照と比較することにより two-tailed Student's t-test により検定した。IL2反応性 (SI) は抗原刺激をしない群と比較して統計学的に有意のものを陽性とした。また IL2反応性 (SI) の疾患 (抗原) 特異性は健康者群と比較して有意に高いものを陽性とした。

結 果

1. 患児末梢血リンパ球のダニ抗原特異的 IL2反応性誘導に与えられる柴朴湯の処理効果

気管支喘息患児より得た末梢血単核細胞に各濃度の柴朴湯で前処理し、Df 抗原刺激で誘導される IL2反応性に与える効果を検討したところ、既に報告したごとく $10^{-3} \times 10^{-2} \mu\text{g}/\text{ml}$ から $3 \times 10^1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の希釈濃度で

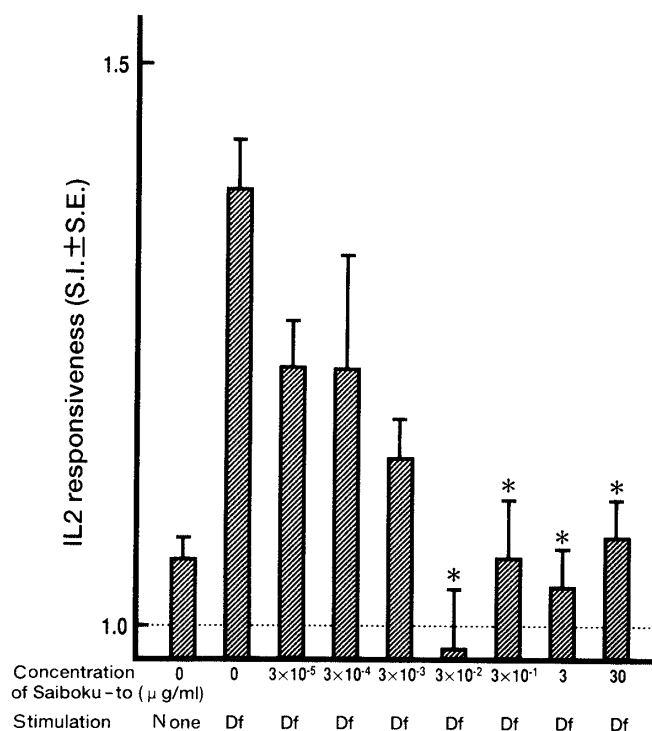


Fig. 1. Relationship between the concentration of Saiboku-to and its suppressive effect on the induction of Df-specific IL2 responsiveness.

(Data of seven experiments were pooled) (* $p < 0.001$)

IL2反応性誘導の抑制作用が認められた (Fig. 1: 検討した11例中任意の7例のデータを示した)。

一方、 3×10^2 及び $6 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$ の高濃度の柴朴湯で処理した場合、むしろ IL2反応性の抑制は軽度であった (成績は示していない)。これらの抗原特異的 IL2反応性に対する柴朴湯の抑制作用の頻度について検討したところ、検査した患児11例中8例のリンパ球で反応が抑制された ($3 \mu\text{g/ml}$ の場合) (Fig. 2)。これらの抑制作用は、抗原提示細胞を柴朴湯で前処理したのち、Df 抗原で刺激し、T 細胞と組合わせた場合 IL2反応性の誘導の抑制が認められたが、T 細胞を柴朴湯で前処理し、Df 抗原で刺激した抗原提示細胞と組合わせた場合には認められなかった (Fig. 3)。よって、柴朴湯には抗原提示細胞に作用して、Df 抗原特異的 IL2反応性を抑制する作用が存在すると考えられた。

2. ダニ抗原特異的 IL2反応性誘導に与える小青竜湯の処理効果

気管支喘息小児におけるダニ抗原特異的 IL2反応性誘導に対する小青竜湯の抑制効果について検討したところ、 $3 \times 10 \mu\text{g/ml}$ の小青竜湯で処理をした場合、10例

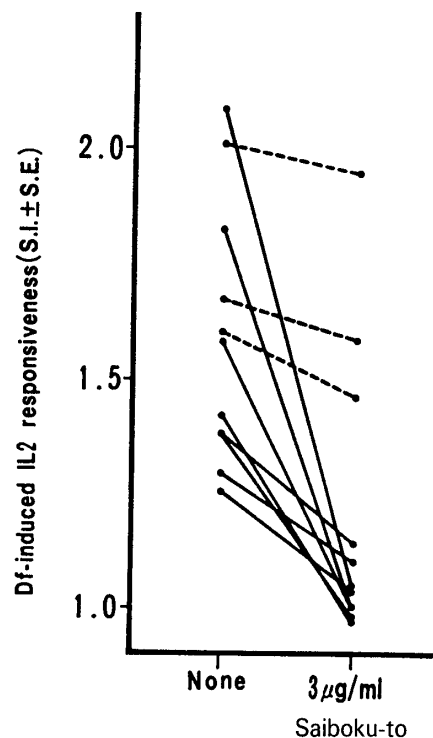


Fig. 2. Saiboku-to-treated lymphocytes failed to induce IL2 responsiveness on stimulation with Df.

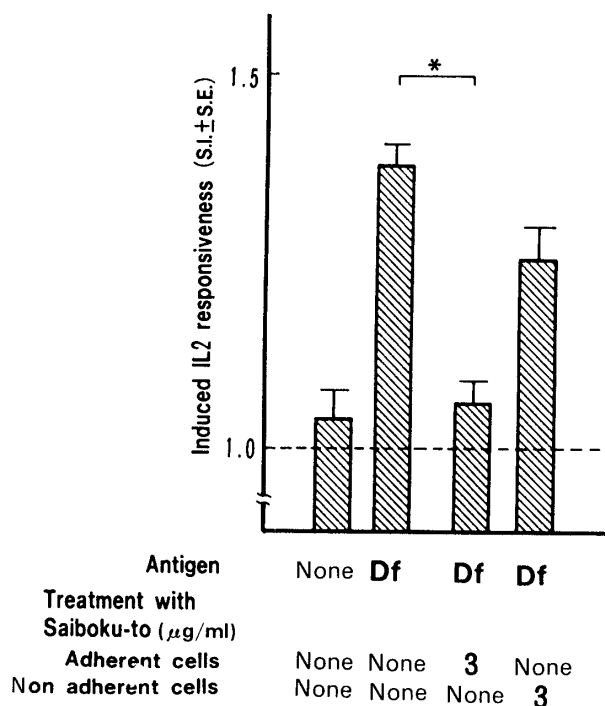


Fig. 3. Saiboku-to-pretreated adherent cells failed to present Df antigen to T cells in inducing IL2 responsiveness.

Three independent experiments were pooled. * $p < 0.001$

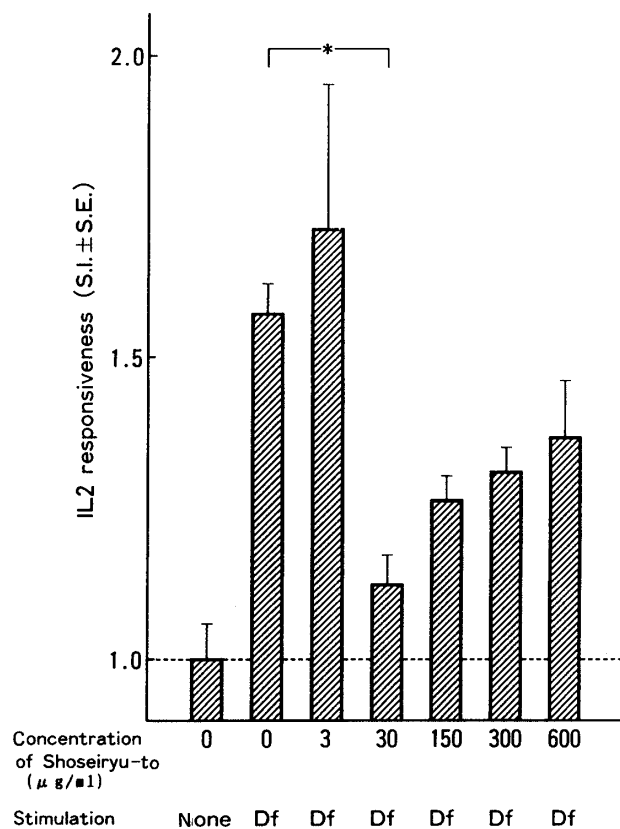


Fig. 4. Suppressive effect of Shoseiryu-to on Df-induced IL2 responsiveness.

(Data of six experiments were pooled) * $p < 0.01$

中 6 例において IL2 反応性の誘導が抑制された。また、 3×10^2 , $6 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$ の小青竜湯ではこの抑制作用は認められなかった (Fig. 4: 抑制を認めた 6 例を示した)。小青竜湯も同様に IL2 反応系における標的細胞を検討したところ、抗原提示細胞を前処理した場合に反応系誘導の抑制作用が認められたが、T 細胞を処理してもそのような作用は認められなかった (Fig. 5)。よって、小青竜湯の抑制作用は、主に Df 抗原特異的 IL2 反応性を誘導する抗原提示細胞に働いていると考えられた。

3. ダニ抗原特異的 IL2 反応性誘導に与える柴苓湯の処理効果

気管支喘息より得た末梢血単核細胞を 1×10^{-6} – $1 \times 10^{-1} \mu\text{g/ml}$ の濃度の柴苓湯で 12 時間前処理したのち、Df 抗原刺激で誘導される IL2 反応性に与える効果を検討したところ、 $1 \times 10^{-2} \mu\text{g/ml}$ の濃度で 17 例中 6 例で軽度の抑制作用を認めたが (Fig. 6, 7)、その抑制の程度は弱かった。柴苓湯を Df 抗原刺激時に同時添加した場合には、これらの抑制作用は認められなかった。IL2 反応性が抑制された症例で、同様に単核細胞を抗

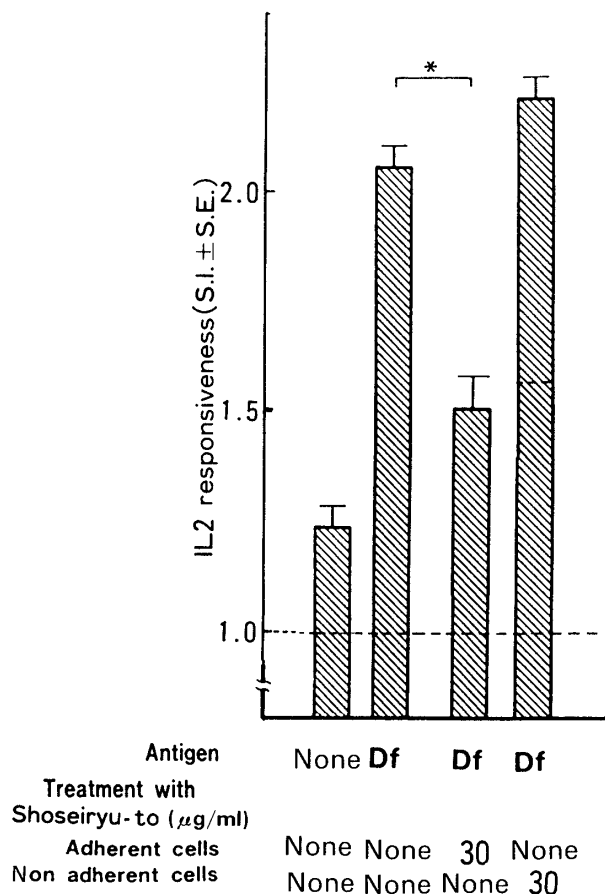


Fig. 5. Shoseiryu-to-pretreated adherent cells failed to present Df-antigen to T cells in inducing IL2 responsiveness.

Three independent experiments were pooled.
* $p < 0.001$

原提示細胞と濃度 T 細胞に分画し、それぞれ柴苓湯を前処理したのち抗原刺激し、反応誘導系における柴苓湯の標的細胞を検討したところ、いずれも 1×10^{-2} , $1 \times 10^{-1} \mu\text{g/ml}$ の濃度で前処理した場合に反応系の抑制を認めたが、その抑制の程度は、抗原提示細胞を前処理した場合より T 細胞を前処理した場合の方が大きかった (Fig. 8)。よって、柴苓湯には抗原提示細胞に働いて Df 特異的 IL2 反応性誘導を抑制作用に加え、T 細胞にも働いて反応系を抑制する作用が存在すると考えられた。

4. PPD 及び Con A 刺激にて誘導される IL2 反応性に与える各漢方方剤の処理効果

Df 特異的 IL2 反応性の誘導を抑制する濃度の各々の漢方方剤にて、単核細胞を前処理し反応系に与える影響について検討したところ、柴朴湯、柴苓湯においては PPD で誘導される IL2 反応性を抑制したが、小青

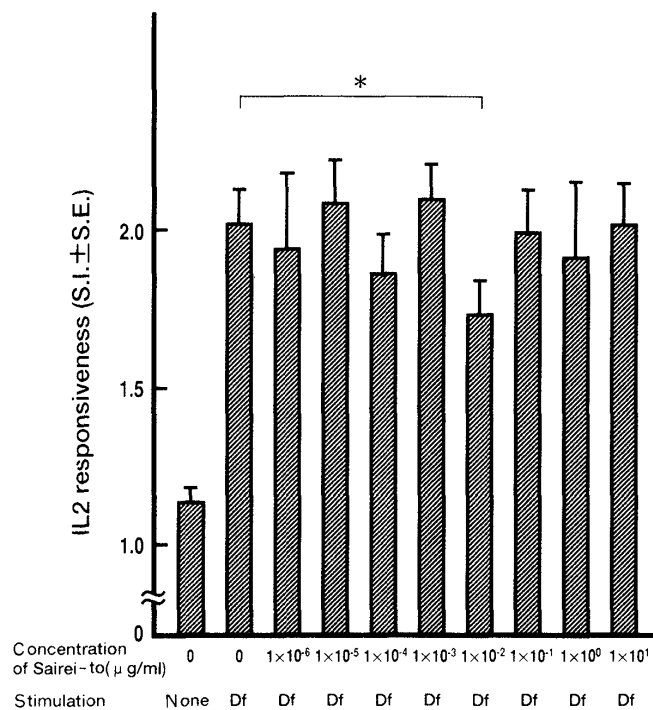


Fig. 6. Relationship between the concentration of Sairei-to and its effect on the induction of Df-induced IL2 responsiveness.

(Data of 17 experiments were pooled) (* $p < 0.05$)

竜湯ではそのような作用は認められなかった (Fig. 9). 一方、同様にして、Con A 刺激で誘導される IL2 反応性に与える漢方方剤の影響について検討を加えたところ、いずれも抑制作用は認められなかった。よって、今回検討した漢方方剤の IL2 反応性抑制作用は軽微な免疫抑制作用によるものであると考えられた。

考 察

柴朴湯、小青竜湯は抗アレルギー作用を有する漢方方剤で、広く臨床の場で用いられその臨床効果も認められている^{9)~12)}。また、柴苓湯は、十二種の生薬、柴胡、沢瀉、半夏、黄芩、蒼朮、大棗、猪苓、人参、茯苓、甘草、桂皮、生姜からなる薬剤であり、抗アレルギー作用をもつとされる生薬の単剤を含有している (Table 1)¹⁸⁾。薬理学的作用は、生薬単剤の甘草、桂皮では抗アレルギー作用¹⁹⁾、黄芩では mast cell の脱顆粒抑制作用²⁰⁾、柴胡、黄芩、甘草、大棗では I 型アレルギー抑制作用²¹⁾などが報告されている。我々は、すでに気管支喘息小児末梢血単核細胞におけるダニ抗原特異的 IL2 反応性誘導に及ぼす、柴朴湯の処理効果につい

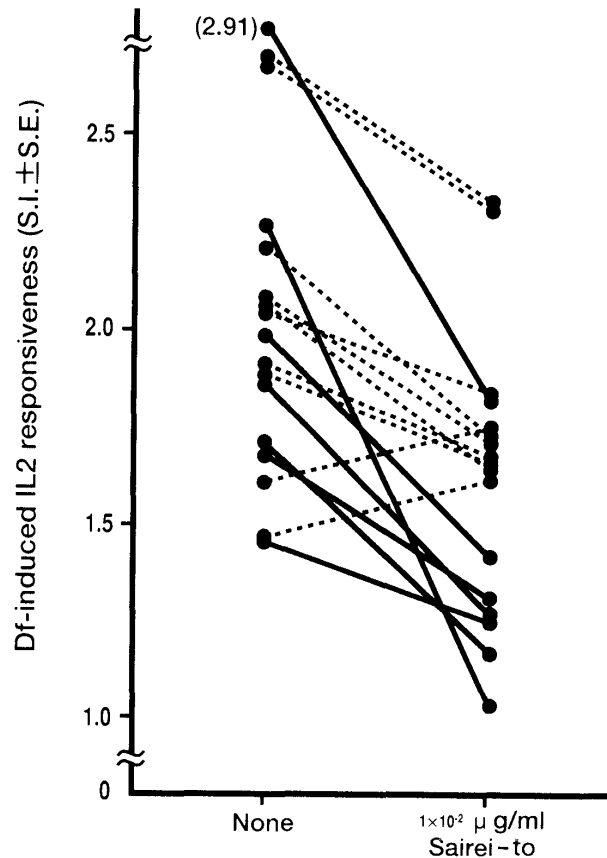


Fig. 7. Sairei-to-treated lymphocytes failed to induce IL2 responsiveness on stimulation with Df.

て検討し、柴朴湯の前処理によりダニ抗原特異的 IL2 反応性が抑制されること、その抑制作用は主に抗原提示付着細胞に対して認められることを報告した (Fig. 3)¹⁶⁾。その抑制作用は、PPD で誘導される IL2 反応性に対しても認められたが、Con A で誘導される IL2 反応性に対しては認められなかったことから、柴朴湯のダニ抗原特異的 IL2 反応性に対する抑制作用は、軽度の免疫抑制作用によるものであると考えられる¹⁶⁾。今回さらに柴朴湯に加え、同じく抗アレルギー作用を有する小青竜湯、及び柴朴湯と一部構成成分を同じくする柴苓湯についても検討を加え、これらの漢方方剤の特徴について比較した (Table 1)。

通常、薬剤の抑制作用は、低濃度から濃度を上げていくと、濃度依存性に抑制作用が認められる場合が多いが、柴朴湯では $3 \times 10^{-2} \mu\text{g/ml}$ から抑制効果を認め、 $3 \times 10^1 \mu\text{g/ml}$ までその抑制を認めた。柴朴湯を常用量 (7.5g/日) 服用時、血中濃度は $5.65 \mu\text{g/ml}$ であることが推測されている¹⁷⁾ことを考えるとこれらの抑制作用は臨床的作用濃度を反映していると考えられる。しかしながら、高濃度の柴朴湯に添加して、濃度に依存し

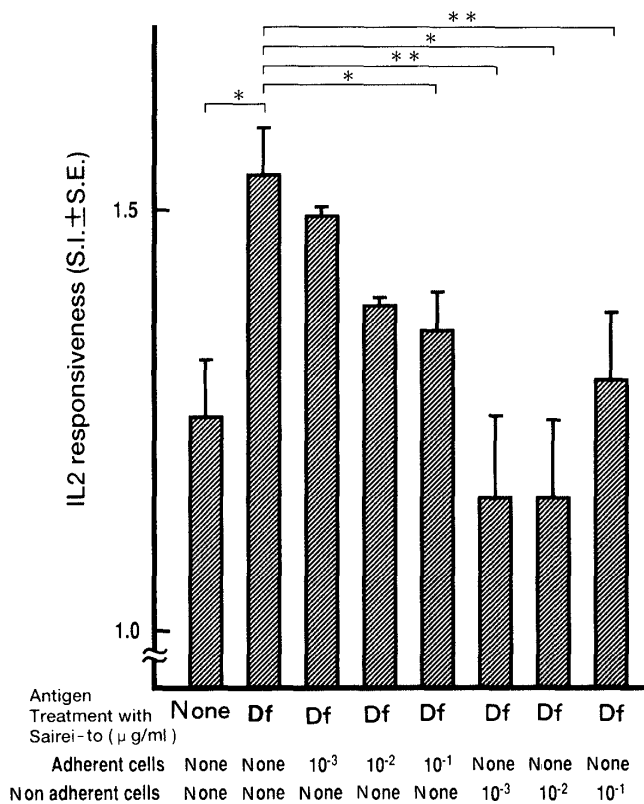


Fig. 8. Sairei-to pretreated adherent cells failed to present Df antigen to T cells in inducing IL2 responsiveness.

Three independent experiments were pooled.

* $p < 0.02$, ** $p < 0.05$

て再度 IL2反応性の誘導が認められたが、これは、柴朴湯自身による T 細胞の活性化作用である可能性が示唆された。Table 1 に示すごとく、柴朴湯は小柴胡湯（ショウサイコトウ）及び半夏厚朴湯（ハンゲコウボクトウ）の合剤であり、10の生薬から成り立っている。今回個々の生薬の作用は検討しえなかったが、これらの各生薬の組合わせにより、その濃度によっては抑制作用を示す場合、及び、結果的に T 細胞を活性化する場合が存在すると考えられた。即ち、柴朴湯を構成する生薬にはいずれも抗炎症あるいは抗アレルギー作用が存在することが報告されているが¹⁸⁾、そのうち柴胡のなかに含有されるサイコサポニンがマウスを用いた実験では、胸腺依存性抗体産生の抑制をしめす免疫抑制作用が存在する²²⁾。また、マイトジェン刺激によるヒトの単核細胞の幼若化反応は柴胡の処理により抑制される²³⁾。しかしながら、この反応は pokeweed mitogen 処理で誘導される抗体産生系は用いた実験ではむしろ増強される²³⁾。一方、人参のなかに含有される ginsenoside Rc, Rb1はヒツジ赤血球抗原で誘導される抗体産生を増強する作用が²⁴⁾、また甘草のなかに含有されるグリチルリチンがヒトの単核細胞の pokeweed mitogen 処理で誘導される抗体産生系を増強する作用が存在する²⁵⁾。このように、漢方方剤に含まれる生薬及びその構成成分はそれぞれ免疫系に与える作用を示すが、その合剤としての方剤はその濃度の差異により免疫系に与える影響は異なると考えられる。柴

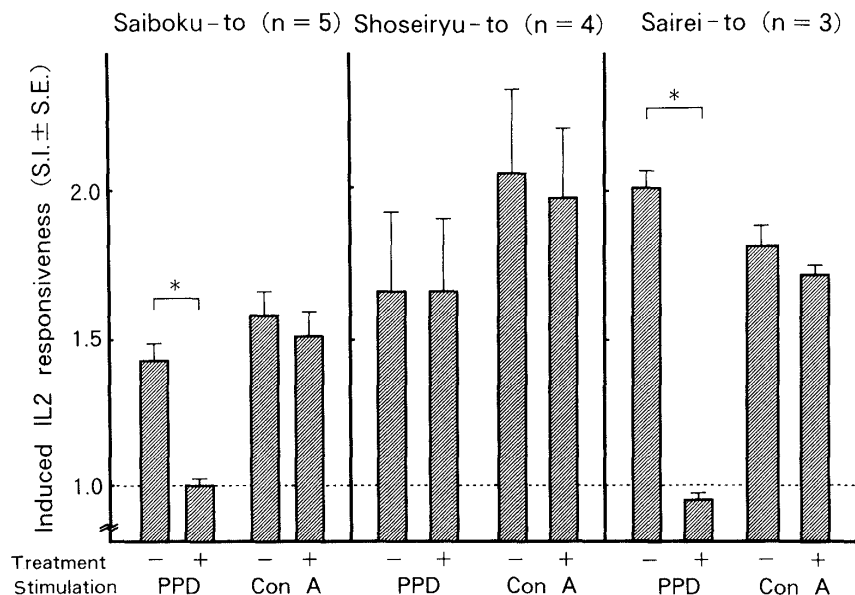


Fig. 9. Effect to Saiboku-to, Shoseiryu-to, and Sairei-to on the IL2 responsiveness induced by PPD or Con A. * $p < 0.001$

Table 1 Kampo medicines and their elements

	サイコ	ニンジン	カンゾウ	コンオン	タイソウ	ハンダ	ショウキョウ	ブクリョウ	コウボク	ソヨウ	ケイヒ	タクシヤ	ソウジユツ	チヨレイ	ゴミシ	サイシン	シヤクヤク	マオウ	カンキョウ
	柴胡	人參	甘草	黄芩	大棗	半夏	生 姜	茯 苓	厚 朴	蘇 葉	桂 皮	沢 瀉	蒼 朮	猪 苓	五味子	細 辛	芍 薬	麻 黄	乾 姜
TJ-9小柴胡湯	○	○	○	○	○	○	○												
	TJ-小柴胡湯																		
TJ-96柴朴湯	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○									
≡ TJ9 + TJ16																			
TJ-114柴苓湯	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○									
≡ TJ9 + TJ17																			
TJ-19小青竜湯			○			○										○	○	○	○
	TJ-19小青竜湯																		

苓湯は $1 \times 10^{-2} \mu\text{g/ml}$ の濃度で35 (6/17) %の症例で軽度の抑制作用を示したにすぎなかったが、この漢方方剤も Table 1 に示すごとく抗アレルギー作用を有すると考えられている小柴胡湯と五苓散（ゴレイサン）の合剤であり、12の生薬からなっていることはすでに述べた通りである。配合されている各生薬の濃度によっては、同様に抑制作用を示す濃度と T 細胞の活性化を示す濃度が存在すると考えられるが、12の生薬の組合せにより、柴苓湯の濃度として $1 \times 10^{-2} \mu\text{g/ml}$ のところで軽度の抑制作用が認められたものと考えられる。これらの生薬を構成する化学物質による作用を検討する必要があると考えられるが、実際、それらのうちのサイコサポニン D 及びバイカリンについてその作用を検討したが、いずれも各々 5×10^1 , $5 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$, 8×10^1 , $8 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$ で濃度依存性に抑制作用を認めた（未発表の成績1992年）。少なくともダニ抗原特異的 IL2反応性の誘導を抑制する化学物質が生薬の中に含まれていることが証明されたが、これら生薬の組合せによる薬理作用については、解析は困難な場合があると考えられる。一方、小青竜湯も抗アレルギー作用を示す漢方方剤であり、広く臨床の場で用いられているが¹¹⁾¹²⁾、この方剤も8種類の生薬から成り、他の2剤と共通する生薬を含んでいる (Table 1)。同様に $3 \times 10 \mu\text{g/ml}$ の濃度で抑制作用を示したが、添加した濃度依存性に再度 IL2反応性の誘導が認められた。これらの抑制作用の機作も柴朴湯及び柴苓湯と同等であると考えられるが、作用頻度は60 (6/10) %と高いものではなかった。いずれも各生薬の組合せと混合物における各生薬の濃度によって、方剤として作用する特徴を有していると考えられた。即ち、抗原特異的 IL2反応性の誘導に対する抑制作用を示す頻度は、症例は少ないが、柴朴湯で73 (8/11) %、柴苓湯で35 (6/17) %、小青竜湯で60 (6/10) %であった。臨床の場で広く抗アレルギー剤として用いられる柴朴湯、小青竜湯で、その頻度が

比較的高く、柴苓湯では比較的低かった。

これらの漢方方剤の他の特異抗原に対する抑制作用についてはすでに報告したとおり¹⁶⁾、柴朴湯では PPD (purified protein derivatives) に対する抑制効果が同様に認められた。今回検討を加えた柴苓湯においても、その頻度は低いが抑制効果を認めた。一方、小青竜湯では、そのような抑制作用は認められなかった。小青竜湯には T 細胞依存性免疫系に対する抑制作用を示す柴胡²²⁾が含まれていないことがその差異として現れている可能性も考えられたが詳細は今後の研究で明らかにされる必要がある。また、Con A (concanavalin A) 添加にて誘導される IL2反応性の抑制効果は、いずれも認められなかった。(柴苓湯についても同様に、Con A による IL2反応性は抑制しなかった。) また、柴朴湯、小青竜湯とも薬剤の標的細胞は特異反応を誘導する抗原提示細胞（ペトリディッシュ付着細胞）であり、検討した範囲内では T 細胞に作用してダニ特異反応を抑制することはなかった。これら漢方方剤はよって、抗原提示細胞の抗原のプロセッシングあるいは抗原提示に対して抑制作用を持つ可能性が考えられる。同様に、抗原提示細胞に作用して T 細胞の活性化を抑制する抗アレルギー剤としてケチフェン²⁶⁾、オキサトミド²⁷⁾あるいはレシチン結合ヨード剤²⁸⁾などが報告されているが、いずれも抗原提示細胞抑制作用の詳細な解析は十分ではない。しかしながら、オキサトミド、レシチン結合ヨード剤では抗原提示に関わる HLA クラス II 抗原や接着分子の表出の異常は認められないものの、これらの分子の表出にかかわるサイトカインの産生の変化が報告されている。

柴苓湯では、その抑制作用は微弱ながら、抗原提示細胞に作用して抑制作用を示す他に、T 細胞に作用してその抑制作用を示す働きが存在した。いずれにせよ、これらの漢方方剤のダニ特異的 IL2反応性の抑制作用は、これらの薬剤のもつ軽い免疫抑制作用によるもの

Table 2 Summary of effect of Kampo-medicines on induced IL2 responsiveness

	Df-stimulation		PPD	Con A	Inhibition rate
	Ad	T	PBMC	PBMC	
Saiboku-to	+	-	+	-	8/11 (73%)
Shoseiryu-to	+	-	-	-	6/10 (60%)
Sairei-to	+	+	+	-	6/17 (35%)

Ad: adherent cells, T: T cells, PBMC: peripheral mononuclear cells, +: inhibition, -: no inhibition

であると考えられた。抗原提示細胞に働いて、その抑制作用を示すのは3剤に共通した成績であったが、同じ抗アレルギー作用を示す漢方方剤でも、柴苓湯には軽度ながらT細胞にも働く作用があると考えられる。柴苓湯は肝¹³⁾や腎疾患¹⁴⁾にも作用することが知られているが、これらのT細胞に対する抑制作用も、その作用機序と何らかのかかわりあいがある可能性が示唆される。Table 2に、IL2反応性にあたえる3剤の影響についてのまとめを示した。

漢方方剤のアレルギー反応にあたえる作用の研究では、これまでIL4, IL5, IFN γ などのサイトカインの産生に対する作用が報告されている²⁹⁾³⁰⁾。いずれにしても、免疫学的作用機作を知るためには、前述のごとく生薬を構成する化学物質について検討を加え、それらの物質と免疫系との相互作用を解析していく必要があると考えられる。

文 献

- 1) Yokota, T., Arai, N., de Vries, J., Spits, H., Banchereau, J., et al.: Molecular biology of interleukin 4 and interleukin 5 genes and biology of their products that stimulate B cells, T cells and hemopoietic cells. *Immunol. Rev.* 102, 137-145, 1988.
- 2) Mosmann, T.R. and Coffman, R.L.: TH1 and TH2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 7, 145-173, 1989.
- 3) Finkelman, F.D., Holmen, J., Katona, I.M., Urban, J.F. Jr., Beckmann, M.P., et al.: Lymphokine control of *in vivo* immunoglobulin isotype selection. *Annu. Rev. Immunol.* 8, 303-330, 1990.
- 4) 野間 剛, 吉沢いづみ, 川野 豊, 伊藤雅彦, 馬場 実, 他: アレルギーに対するアトピー患者リンパ

- 球の応答性一年齢による変動, 健康児との比較および診断的意義. アレルギー 36, 1075-1085, 1987.
- 5) Noma, T., Kawano, Y., Yoshizawa, I., Mukouyama, T., Baba, M., et al.: Ovalbumin antigen specific induction of IL2 responsiveness in lymphocytes from patients with hen-egg allergy and its regulation by the culture supernatant of normal lymphocytes. *Ann. Allergy* 64, 33-41, 1990.
 - 6) Yoshizawa, I., Noma, T., Kawano, Y. and Yata, J.: Allergen specific induction of IL2 responsiveness in lymphocytes from asthmatic children. I. Antigen specificity and initial events of the induction. *J. Allergy Clin. Immunol.* 84, 246-255, 1989.
 - 7) Noma, T., Toshizawa, I., Maeda, K., Ichikawa, K., Baba, M., et al.: Allergen specific induction of IL2 responsiveness in lymphocytes from asthmatic children. II Regulation of IL2 antigen responsiveness by supernatants of normal lymphocytes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 84, 256-262, 1989.
 - 8) 野間 剛, 吉沢いづみ, 中村 靖, 川野 豊, 中島 忠, 他: PI 蛍光色素を用いたヒト末梢血リンパ球の抗原特異的 IL2 反応性の迅速測定とアレルギー性疾患における病因抗原の検索. アレルギー 41, 1349-1353, 1992.
 - 9) 西依 健, 土屋博司, 稲垣直樹, 永井博弐, 江田昭英: 漢方方剤, 柴朴湯の I 型アレルギー反応, 特に実験的アトピー性喘息に及ぼす影響. 日薬理誌 85, 7-16, 1985.
 - 10) 梅里義博, 飯倉洋治, 中村祐子: 気管支喘息児と漢方(II). 小青竜湯および柴朴湯の抗アレルギー作用についての検討. アレルギー 33, 1047-1052, 1984.
 - 11) 小田嶋博, 馬場 実, 岩田 力, 早川 浩, 小林 登ほか: 小児気管支喘息に対する柴朴湯の臨床効果. 小児内科 16, 29-39, 1984.
 - 12) 小田嶋博, 馬場 実: 小児気管支喘息に対する小青竜湯投与経験—体質ないし証と適応に關しての柴朴湯投与経験との比較考察. 日小ア誌 2, 36-40, 1988.
 - 13) 大原健士朗, 今泉寿明, 杉田知己, 牛見 豊, 田口博之, 他: アルコール性肝障害の初期治療における柴苓湯の治療効果. 新薬と臨床 39, 108-112, 1990.
 - 14) 東條静夫, 吉利 和, 長沢俊彦, 成田光陽, 宮原正, 他: 慢性糸球体腎炎, ネフローゼ症候群における医療用漢方製剤 柴苓湯(TJ-114)の臨床効果. 腎と透析 31, 613-625, 1991.
 - 15) Boyum, A.: Separation of lymphocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. Clin. Lab.*

- Invest.* 21, 51, 1968.
- 16) 冠本智之, 野間 剛, 川野 豊, 吉沢いづみ, 前田 和一, 他: 気管支喘息小児の末梢血リンパ球における抗原特異的 interleukin 2 反応性誘導に対する柴朴湯の処理効果. *アレルギー* 39, 610-614, 1990.
 - 17) 岡本章一, 多田慎也, 木村郁郎, 高橋 清: モルモット喘息モデルのリンパ球機能に対する柴朴湯の効果. *漢方と免疫・アレルギー* 8, 24-28, 1994.
 - 18) 山田光胤, 丁 宗鉄 監修: 生薬ハンドブック. 協和企画, pp. 1-217, 1994.
 - 19) 畦柳武雄, 斎藤晶信: prednisolone および glycyrrhizine の実験的アレルギー性脳脊髄炎の passive transfer に及ぼす影響. *アレルギー* 15, 67-74, 1966.
 - 20) 江田昭英, 永井博式, 和田 浩: baicalin および baicalein の薬理作用(第1報)—能動的アナフィラキシー反応に及ぼす影響. *日薬理誌* 66, 194-213, 1970.
 - 21) 西依 健, 江田昭英, 谿 忠人, 有地 滋: 和漢薬の抗アレルギー反応に対する作用. *Proc. Symp. Wakanyaku* 15, 187-191, 1982.
 - 22) 甲野裕之, 太原充子, 山口宣夫, 小田島肅夫: 免疫応答に対するサイコサポニンの作用. 和漢医薬学会誌 2, 194-195, 1985.
 - 23) 溝口靖紘, 筒井ひろ子, 山本祐夫, 森沢成司: 柴胡の *in vitro* における抗体産生と mitogen 刺激によって誘導されるリンパ球幼若化に及ぼす影響. 和漢医薬学会誌 2, 330-336, 1985.
 - 24) Mita, A., Shida, R., Kasai, N. and Shoji, J.: Enhancement and suppression in production of IgM-antibody in mice treated with purified saponins. *Biomedicine* 31, 223-227, 1979.
 - 25) 溝口靖紘, 池本吉博, 新井孝之, 山本祐夫, 森沢成司: グリチルリチンの *in vitro* における抗体産生細胞におよぼす影響. *アレルギー* 33, 328-335, 1984.
 - 26) Noma, T., Yoshizawa, I., Baba, M., Yata, J., Akasaka, T., et al.: Effect of ketotifen on antigen-induced interleukin 2 (IL-2) responsiveness in lymphocytes from patients with atopic dermatitis and/or bronchial asthma. *Int. J. Immunopharmacol.* 12, 269-277, 1990.
 - 27) 吉沢いづみ, 中島 忠, 川野 豊, 野間 剛: 気管支喘息患児リンパ球のダニ抗原特異的 IL2 反応性誘導に与える oxatomide の処理効果. *アレルギー* 43, 535-543, 1994.
 - 28) Kawano, Y. and Noma, T.: Modulation of mite antigen-induced immune responses by lecithin-bound iodine in peripheral blood lymphocytes from patients with bronchial asthma. *Br. J. Pharmacol.* 115, 1141-1148, 1995.
 - 29) 東田有智, 原田龍太, 長坂行雄, 中島重徳: 柴朴湯のリンパ球に及ぼす影響. *漢方と免疫・アレルギー* 8, 10-15, 1994.
 - 30) 永井博式, 井上直己, 江田昭英, 大黒道夫: 神秘湯の抗喘息作用機序. *漢方と免疫・アレルギー* 8, 51-62, 1994.

INHIBITORY EFFECT OF KANPO-MEDICINES: SAIBOKU-TO, SYOUSERYU-TO,
SAIREI-TO ON *DERMATOPHAGOIDES FARINAE* ANTIGEN-INDUCED IL2
RESPONSIVENESS IN LYMPHOCYTES FROM PATIENTS WITH
BRONCHIAL ASTHMA AND THEIR COMPARISON

Takeshi Noma¹⁾, Tadashi Nakajima¹⁾, Yutaka Kawano¹⁾, Izumi Yoshizawa¹⁾,
Tomoyuki Kabuki²⁾ and Minoru Baba³⁾

¹⁾Departments of Pediatrics, Saitama Medical School, ²⁾National Defense Medical
College and ³⁾Doai Memorial Hospital

We had previously reported that antigen-induced IL2 responsiveness by lymphocytes can be used to indentify etiological allergens and to monitor the clinical activity in atopic diseases. The effect of Kanpo-Medicines; Saiboku-to, Syoseiryu-to, Sairei-to, antiallergic agents, on *Dermatophagoides farinae* (Df) antigen-induced interleukin 2 (IL2) responsiveness from patients with bronchial asthma was studied and compared among 3 Kanpo-medicines.

Allergen-sensitized patient mononuclear cells pretreated with 30-30,000 ng/ml doses of Saiboku-to for 16 hours failed to induce responsiveness to IL2 on stimulation with Df antigen in 8 patients out of 11 (73%). The cells treated with 30 μ g/ml of Syoseiryu-to also failed to introduce the response in 6 out of 10 (60%) with less frequency compared with Saiboku-to. Sairei-to also suppressed the response on stimulation with a 10 μ g/ml dose alone in 1×10^{-3} – 1×10^{-4} ng/ml doses examined in 6 patients out of 17 (35%) with much less frequency and % inhibition.

Also Saiboku-to and Sairei-to not Syoseiryu-to inhibited purified protein derivatives (PPD)-induced IL2 responsiveness. However. These agents failed to suppress the Con A-induced IL2 responsiveness.

Antigen-presenting adherent cells were more susceptible to any Kanpo-medicines studied rather than IL2-responding T cells except Sairei-to. These results indicated that Kanpo-medicines studied have a weak immuno-suppressive property resulting in inhibiting antigen-induced IL2-responsiveness.

Suppressive effects of each Kanpo-medicine seemed to depend on combinations and doses of their elements (Syoyaku). Decreased suppressive effect of higher doses of any Kanpo-medicine was likely to be mitogenic effects of each element on T cells.