

# 難治性喘息の治療に関する研究

## 第 2 編

### 重症難治性喘息におけるリンパ球および好中球に及ぼす 各種漢方薬の薬理作用に関する検討

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

江 田 良 輔

(平成 2 年 8 月 31 日受稿)

**Key words:** 難治性喘息, 柴朴湯, 漢方薬, リンパ球, 好中球

#### 緒 言

成人の重症難治性喘息, とりわけ木村により提唱された中高年発症性喘息<sup>1)</sup>は, 若年発症のアトピー型気管支喘息とは基本的に発症機序が異なり, 従来の IgE を介する I 型反応中心の機作のみでは説明し難い複雑な病態が想定されている。中高年発症型喘息の多くは非アトピー型であり発作も通年性, 慢性型でしばしば種々の治療に抵抗し容易にステロイド依存性になるという臨床像の特徴を有している<sup>2)</sup>。こうした病像は通常の小児喘息のそれとはかなり趣を異にしており, 従って両者の発症機作に関わる抗原, 抗体や作動する標的細胞は単一的なものとは考え難い。すなわち成人の重症難治性喘息では, 抗原はハウスダストよりもカンジダ<sup>3)4)5)</sup>, 抗体は IgE より IgG 優位<sup>6)7)8)9)</sup>, 標的細胞としては肥満細胞・好塩基球のみならず好中球, 好酸球などの顆粒球, さらにリンパ球・マクロファージ系の関与<sup>10)11)</sup>が重要であることが示唆されている。従って重症難治性喘息を克服してゆくには, こうした I 型以外の III 型および IV 型アレルギー反応に基づく種々の血液細胞の相互作用による悪循環を断ち切ることが肝要である。

著者は第 1 編にて漢方薬の柴朴湯が重症難治性喘息に対して抗原特異的リンホカイン産生の抑制を介して, すなわち IV 型アレルギー反応を制御することにより臨床効果を発揮することを

報告した。かかる柴朴湯は 10 種類の生薬で構成されているが, リンパ球の反応亢進に及ぼす本剤の抑制効果をさらに明確にする目的で, 本編では柴朴湯の主成分である小柴胡湯および半夏厚朴湯と比較的軽症なアトピー型喘息に有効性の高い<sup>12)13)14)</sup>小青竜湯とを比較した。さらに喘息の重症難治化に関わりが深い好中球自体に及ぼす柴朴湯の影響を他の漢方薬と比較検討した。

#### 対象と方法

対象は岡山大学第 2 内科外来通院中の重症難治性喘息患者 7 例を選んだ (Table 1)。まず患者末梢血のリンパ球機能すなわち特異抗原で刺激した際に認められる Interleukin 2 (IL-2) 産生能の亢進<sup>10)</sup>並びにリンパ球表面 Interleukin 2 receptor (IL-2 R) の過剰発現<sup>15)</sup>に及ぼす各種漢方薬の影響を検討した。次に好中球に対する各種漢方薬の直接的な薬理作用として, 患者末梢血好中球からの Leukotriene C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) 及び Superoxide (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 産生能<sup>16)</sup>に及ぼす影響も併せ検討した。なお添加実験に用いる各種漢方薬 (柴朴湯, 小柴胡湯, 半夏厚朴湯及び小青竜湯) の溶液は, 顆粒製剤 (TJ-96, TJ-9, TJ-16 及び TJ-19) を各種 buffer で加熱溶解 (60°C, 1 時間) し遠沈後上清をミリポアフィルター (Millex 0.45μm) で濾過して作成した。

Table 1 Characteristics of patients with intractable asthma.

No.	Age	Sex	IgE (RIST) IU/ml	IgE (RAST)		Precip. antibody		Lymphocyte blastogenesis (S.I.)	
				HD	Candida	HD	Candida	Mite	Candida
1	60	F	93.8	0	0	—	—	1.17	4.60
2	62	M	46.3	0	0	—	±	1.62	3.59
3	43	M	381.4	3	0	—	—	2.03	2.72
4	26	M	303.5	0	0	—	—	1.80	3.29
5	46	M	897.6	0	0	—	—	1.73	3.00
6	54	M	1019.8	0	0	—	—	1.19	5.55
7	52	F	103.5	0	0	—	—	1.03	3.74

### 1. 末梢血リンパ球の IL-2 産生能に及ぼす各種漢方薬の影響

リンパ球の IL-2 産生能の測定法は、まず Histopaque 1077 (Sigma) による比重遠沈法にて患者末梢血より単核球を分離し、1% Fetal calf serum (FCS) 加 RPMI 1640 にて細胞数  $1 \times 10^6/ml$  に調整し、24 well の tissue culture cluster (Costar) に  $1 ml$  ずつ分注し、次に各種漢方薬溶液を最終濃度 100 及び  $500 \mu g/ml$  になるように各 well に添加し、対照には RPMI 1640 を添加した。さらにカンジダ抗原 (カンジダ凍乾末・鳥居薬品を RPMI 1640 にて溶解) を最終濃度が  $150 \mu g/ml$  になるように各 well に添加後  $CO_2$  incubator で  $37^\circ C$ , 48 時間培養した。得られた培養上清中の IL-2 を Inter Test 2 ELISA (Genzyme Corporation) を用い以下のごとく測定した<sup>17)</sup>。すなわち、96 well の immunoplate に抗 IL-2-マウスモノクローナル抗体をコーティングし洗浄後、検体及び recombinant IL-2 標準品を duplicate で添加し 6 時間 incubate した。洗浄後、抗 IL-2-ウサギ抗体を添加し 1 時間 incubate 後洗浄し、さらに ALP-ヤギ抗ウサギ IgG を添加して 1 時間 incubate した。洗浄後 para-nitrophenyl phosphate (p-NPP) 含有  $MgCl_2$  を添加し反応させた後、ELISA reader (BIO-RAD, 405 nm) にて比色測定し Unit/ml で表した。

### 2. 末梢血リンパ球表面 IL-2 R (CD 25) 発現に及ぼす各種漢方薬の影響

リンパ球表面に発現している IL-2 R (CD

25)<sup>18)</sup> をフローサイトメトリーによる 2 color analysis により解析した<sup>18)</sup>。すなわち、患者末梢血より分離した単核球 (1% FCS 加 RPMI 1640) 浮遊液 (細胞数  $1 \times 10^6/ml$ ) を 24 well の tissue culture cluster (Costar) に  $2 ml$  ずつ分注し、各 well に各種漢方薬溶液を最終濃度  $100 \mu g/ml$  になるように、また対照として RPMI 1640 を添加後、さらにカンジダ抗原を最終濃度  $150 \mu g/ml$  になるように加え  $CO_2$  incubator で  $37^\circ C$ , 48 時間培養した。培養したリンパ球を回収し洗浄後 PBS に浮遊させ、2 種類のモノクローナル抗体すなわち FITC 標識抗 IL-2 receptor (CD 25) および PE 標識 Leu-3 a (CD 4) を添加反応させ、再度洗浄し PBS に浮遊させた検体を FACS can (Becton Dickinson 社製) に注入し、2 color analysis にて解析し、IL-2 R 発現量は fluorescent intensity の平均値にて表した。

### 3. 末梢血好中球からの $LTC_4$ 産生能に及ぼす各種漢方薬の影響

#### (1) 柴朴湯内服投与による影響

重症難治性喘息患者 7 例に柴朴湯エキス顆粒製剤 (TJ-96) を 1 日 7.5 g, 分 3 にて投与し、その投与前及び投与後 2~3 ヶ月目に採血を行い末梢血好中球の  $LTC_4$  産生能を測定した。測定は教室の方法<sup>16)</sup> に準じて以下のごとく行った。すなわち、まずヘパリン加静脈血  $13 ml$  に 6% デキストラン  $2 ml$  を加え室温に 30-60 分間静置後、得られた buffy coat を Histopaque 1077 (Sigma) による比重遠沈法で好中球分画を

採取し、蒸留水 1 ml を加えて溶血処理を行った。1 ml の 1.8% NaCl により等張に戻した後再度遠沈し Tris buffer (ヒトアルブミン,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  添加, pH 7.38) により精度 95% 以上の好中球  $7 \times 10^6$  PMNs/ml の浮遊液を作成した。かかる浮遊液 1 ml を遮光試験管に注入し calcium ionophore A23187 (CaI) を  $5 \mu\text{g}$  加え、 $37^\circ\text{C}$ 、15 分間 incubate した。また同様に好中球浮遊液に自己血清を加え 15 分間 preincubate 後カンジダ抗原 (カンジダ凍乾末・鳥居薬品の Tris buffer 溶解液) を最終濃度  $150 \mu\text{g}/\text{ml}$  になるように添加し  $37^\circ\text{C}$ 、15 分間 incubate した。incubate 終了後各種試験管に 4 倍量の純エタノールを加えて反応を停止し、その検体を遠沈し上清を SEP-PAKC<sub>18</sub> (Waters 社製) で処理後 Concentrator TC-8 (太陽科学工業社製) にて蒸発乾固させ 50% アセトニトリル  $500 \mu\text{l}$  で再溶解した。このうち  $150 \mu\text{l}$  を TSK-GEL ODS-120T (東ソー社製) カラムを用いた高速クロマトグラフィー (High performance liquid chromatography, HPLC, Waters 社製) に注入し、 $\text{LTC}_4$  を定量した。 $\text{LTC}_4$  産生能は  $\text{ng}/7 \times 10^6$  PMNs で表した。

#### (2) 各種漢方薬添加による影響

前述の方法で患者末梢血より得た好中球浮遊液に柴朴湯溶液 (TJ-96 を Tris buffer で溶解したもの) を 0.1, 0.5, 1 及び 2 mg/ml の濃度にて添加し 15 分間 preincubate 後、CaI を  $5 \mu\text{g}$  加え 15 分間反応させ、産生された  $\text{LTC}_4$  を HPLC にて測定した。また同様に小柴胡湯および小青竜湯溶液を  $0.5 \text{mg}/\text{ml}$  の濃度にて添加した際の影響も併せ検討し柴朴湯の効果と比較した。

#### 4. 末梢血好中球の $\text{O}_2^-$ 産生能に及ぼす各種漢方薬の影響

$\text{O}_2^-$  産生能の測定は、教室の方法<sup>10)</sup>に準じて行った。すなわち患者末梢血より得た好中球の Krebs ringer phosphate buffer (KRP, pH 7.4) 浮遊液  $20 \mu\text{l}$  を  $65 \mu\text{M}$  の酸化型 cytochrome C を含む KRP に注入し、同時に柴朴湯溶液 (TJ-96 を KRP で溶解したもの) を最終濃度 5, 10, 30 および  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  を添加し、 $37^\circ\text{C}$ 、5 分間 incubate した。次に concanavalin A ( $10 \text{mg}/\text{ml}$ ) を  $20 \mu\text{l}$  と cytochalasin E ( $2 \text{mg}/\text{ml}$ ) を  $20 \mu\text{l}$  添加し、産生される  $\text{O}_2^-$  により還元される cyto-

chrome C の吸光度の変化を double beam spectrophotometer UV-210A (島津) を用いて UV 550 nm において計測し、 $\text{O}_2^-$  産生能を好中球  $10^6$  当りの産生量 ( $\text{n mol}/\text{min}/10^6$  PMNs) で表わした。また同様に小柴胡湯および小青竜湯溶液を  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度にて添加した際の影響も併せ検討し柴朴湯の効果と比較した。

#### 5. 各種漢方薬の cytotoxicity に関する検討

添加実験における薬剤自体の cytotoxicity に関しては薬剤添加と非添加におけるリンパ球及び好中球の viability を trypanblue dye exclusion test 及び上清中の lactate dehydrogenase (LDH) 値の測定により検討した。その結果、今回使用した漢方薬には細胞の直接障害作用のないことが確認された。

#### 6. 薬理効果の評価とその推計学的 (有意差) 検定

添加薬剤の効果の評価は [(薬剤無添加時の値 - 薬剤添加時の値) ÷ 薬剤無添加時の値] × 100 = 抑制率 (%) により検討した。その推計学的有意差検定は student's test を用い、P value は  $p < 0.05$  を有意と考えた。

### 成 績

#### 1. 末梢血リンパ球の IL-2 に及ぼす各種漢方薬の影響

第 1 編で報告したカンジダ刺激による末梢血リンパ球の IL-2 産生能に対する柴朴湯の抑制効果を小柴胡湯、半夏厚朴湯及び小青竜湯と比較検討した。その結果、特異抗原刺激 (カンジダ) による IL-2 産生能の抑制率は柴朴湯では  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  添加時には  $10.3 \pm 6.6\%$ 、 $500 \mu\text{g}/\text{ml}$  添加では  $66.5 \pm 19.9\%$  であり濃度依存性に有意な抑制効果を示した。一方小柴胡湯および半夏厚朴湯では個々の症例により抑制作用あるいは逆に増強作用を示す場合があり、柴朴湯のごとき一定の抑制効果は認められず、濃度依存性の効果は示さなかった。小柴胡湯の  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  及び  $500 \mu\text{g}/\text{ml}$  添加時の抑制率は各々  $4.4 \pm 23.6\%$ 、 $12.3 \pm 24.5\%$ 、半夏厚朴湯のそれは各々  $7.7 \pm 11.6\%$ 、 $9.2 \pm 20.4\%$  で、小青竜湯は各々  $0.2 \pm 0.2\%$ 、 $0.4 \pm 3.5\%$  とほとんど抑制効果を示さず、いずれの漢方薬も柴朴湯に勝る IL-2 産生能の

抑制効果は認めなかった (Fig. 1).

2. 末梢血リンパ球の IL-2 R 発現に及ぼす各種漢方薬の影響

重症難治性喘息患者の末梢血リンパ球をカンジダ抗原により刺激した際のリンパ球表面 IL-2 R 発現を柴朴湯が抑制することを第1編で報告したが、各種漢方薬100 $\mu$ g/ml添加時の抑制率

は、柴朴湯では第1編で報告したごとく39.6 $\pm$ 13.9%であり有意な抑制効果が認められたのに対し (p<0.05)、小柴胡湯では11.5 $\pm$ 13.5%、半夏厚朴湯では2.2 $\pm$ 18.4%、小青竜湯では4.6 $\pm$

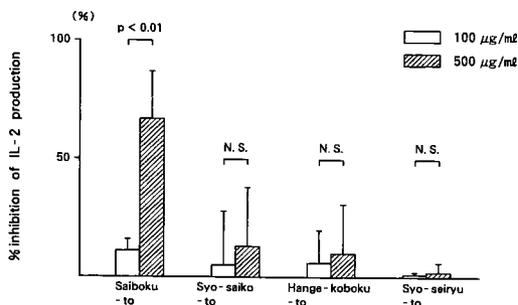


Fig. 1 Effect of various Kampo prescriptions on IL-2 production of peripheral blood lymphocytes stimulated by Candida antigen in intractable asthmatics at a concentration of 500 $\mu$ g/ml. (n=6)

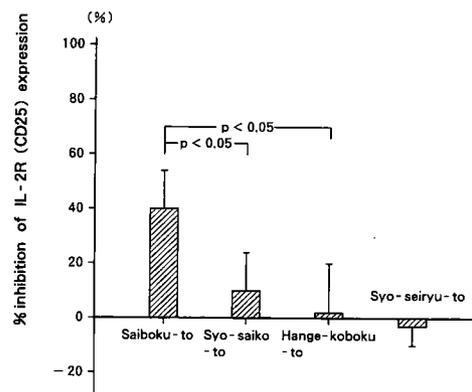


Fig. 2 Effect of various Kampo prescriptions on IL-2 receptor expression of peripheral blood lymphocytes stimulated by Candida antigen in intractable asthmatics at a concentration of 100 $\mu$ g/ml. (n=6)

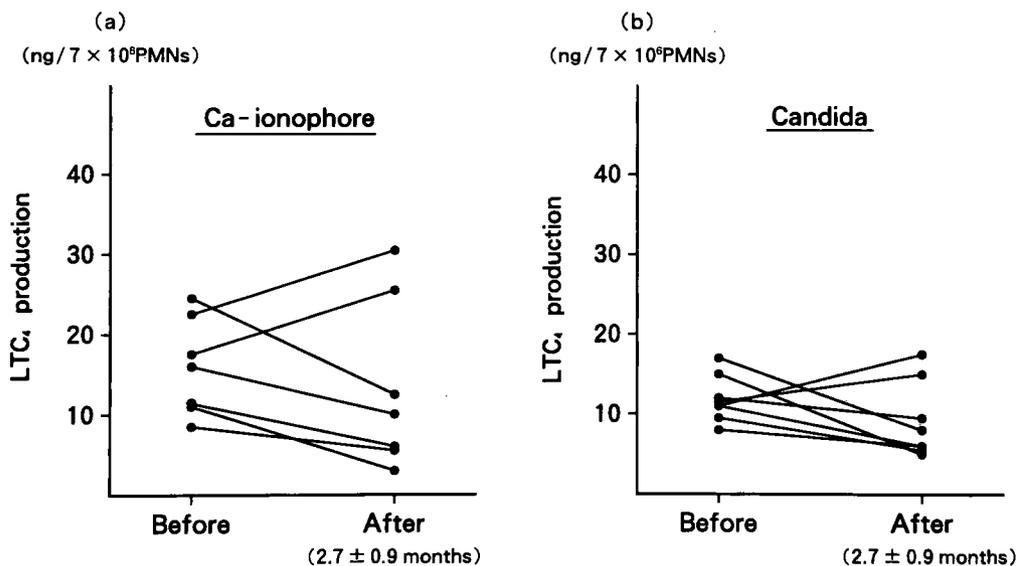


Fig. 3 Effect of oral administration of Saiboku-to (TJ-96) on leukotriene C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) production from peripheral blood neutrophils stimulated by Ca-ionophore (a) and Candida antigen (b) in intractable asthmatics. (n=7)

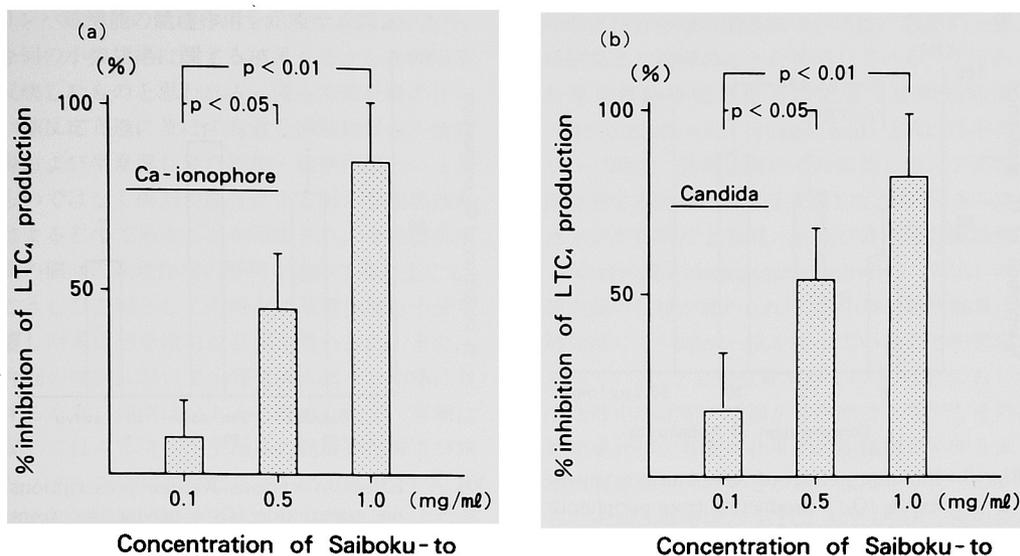


Fig. 4 Inhibitory effect of Saiboku-to on leukotriene C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) production from peripheral blood neutrophils stimulated by Ca-ionophore (a) and *Candida* antigen (b) in intractable asthmatics. (n = 5)

0.2%であり、IL-2 産生能に対する作用と同様に逆に増強作用も示す症例もあり有意な抑制効果は認められなかった (Fig. 2).

### 3. 末梢血好中球からの LTC<sub>4</sub> 産生能に及ぼす各種漢方薬の影響

#### (1) 柴朴湯内服投与による影響

重症難治性喘息患者 7 例に柴朴湯エキス顆粒製剤 (TJ-96) を投与し、投与前後の末梢血好中球の CaI 及びカンジダ刺激による LTC<sub>4</sub> 産生能を測定したところ、臨床的有効例 5 例に投与後の各刺激による LTC<sub>4</sub> 産生能の低下傾向が認められ、無効例 2 例では一定の傾向は認め難かった (Fig. 3).

#### (2) 各種漢方薬添加による影響

患者末梢血好中球に柴朴湯溶液を 0.1, 0.5 及び 1 mg/ml 添加した際の LTC<sub>4</sub> 産生能の抑制率は、CaI 刺激では各々 10.1 ± 10.1%, 46.1 ± 15.1% および 86.0 ± 16.7%, カンジダ刺激では各々 17.1 ± 19.3%, 53.2 ± 14.9% および 84.5 ± 21.2% であり、各刺激による LTC<sub>4</sub> 産生能は柴朴湯により濃度依存性に抑制された (Fig. 4)。また、小柴胡湯並びに小青竜湯溶液を 0.5 mg/ml 添加した際の CaI 刺激による LTC<sub>4</sub> 産生能の抑制率

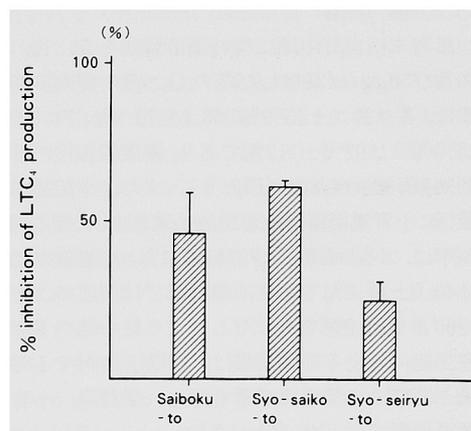


Fig. 5 Effect of various Kampo prescriptions on leukotriene C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) production from peripheral blood neutrophils stimulated by Ca-ionophore in intractable asthmatics at a concentration of 500 µg/ml. (n = 5)

は小柴胡湯では 61.0 ± 1.0%, 小青竜湯では 25.1 ± 5.3% であり、柴朴湯では前述のごとく 46.1 ± 15.1% であったことより、好中球の LTC<sub>4</sub> 産生能に対する抑制効果は、小柴胡湯が最も強く、柴朴湯、小青竜湯の順であった (Fig. 5)。

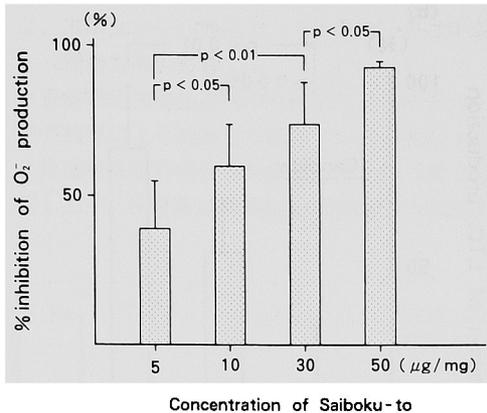


Fig. 6 Inhibitory effect of Saiboku-to on superoxide ( $O_2^-$ ) production from peripheral blood neutrophils stimulated by Concanavalin A and Cytochalasin E in intractable asthmatics. (n = 6)

#### 4. 末梢血好中球の $O_2^-$ 産生能に及ぼす各種漢方薬の影響

患者末梢血好中球に柴朴湯溶解液を5, 10, 30及び50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加した際の $O_2^-$ 産生能の抑制率は、各々39.0 $\pm$ 15.9%, 60.0 $\pm$ 13.9%, 74.0 $\pm$ 13.5%及び92.6 $\pm$ 1.2%であり、濃度依存性の抑制効果が認められた(Fig. 6)。また、小柴胡湯並びに小青竜湯溶解液を10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加した際の抑制率は、小柴胡湯では73.5 $\pm$ 3.1%, 小青竜湯では40.0 $\pm$ 11.2%であり、柴朴湯では前述のごとく60.0 $\pm$ 13.9%であったことより好中球の $O_2^-$ 産生能に対する抑制効果は、 $\text{LTC}_4$ に対する効果と同様に小柴胡湯が最も強く、柴朴湯、小青竜湯の順であった(Fig. 7)。

#### 考 察

柴朴湯が重症難治性喘息においてIV型アレルギー反応の抑制効果により、優れた臨床効果とステロイド離脱効果を発揮することを第1編で明らかにしたが、本編においては、柴朴湯、小柴胡湯、半夏厚朴湯および小青竜湯の重症難治性喘息患者末梢血のリンパ球並びに好中球機能に及ぼす影響を比較検討した。なお、柴朴湯との比較に小柴胡湯および半夏厚朴湯を選んだ理由は、柴朴湯が小柴胡湯と半夏厚朴湯の合方剤

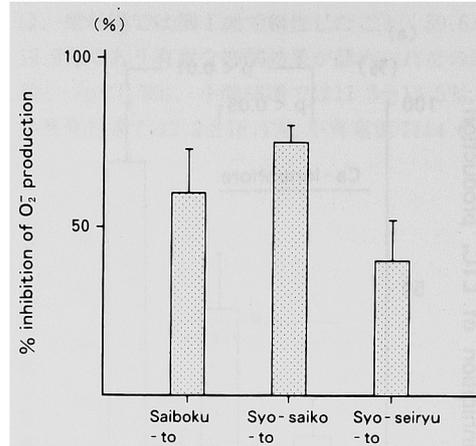


Fig. 7 Effect of various Kampo prescriptions on superoxide ( $O_2^-$ ) production from peripheral blood neutrophils stimulated by Concanavalin A and Cytochalasin E in intractable asthmatics at a concentration of 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ . (n = 5)

であることより、柴朴湯の作用が両者の相加・相乗効果か、あるいは固有の作用か否かを明確にすることにあった。また比較的軽症なアトピー型気管支喘息に有効性が高い<sup>12)13)14)</sup>小青竜湯と柴朴湯の薬理作用との差異も比較した。その結果、末梢血リンパ球のカンジダによるIL-2産生能およびIL-2R発現は、柴朴湯にのみ明らかな抑制効果を認め、小柴胡湯、半夏厚朴湯および小青竜湯には有意な抑制作用は認めなかった。末梢血好中球の $\text{LTC}_4$ および $O_2^-$ 産生能に対して柴朴湯は濃度依存性の有意な抑制効果を示した。小青竜湯にも軽度の抑制作用がみられたが、小柴胡湯に両者に勝る抑制作用が認められた。

さてリンパ球に及ぼす作用の検討において、柴朴湯がカンジダ抗原によるIL-2産生能およびIL-2R発現に対して常に一定方向の有意な抑制効果を示すのに比べて小柴胡湯および半夏厚朴湯では、逆に明らかな増強作用を示す症例があった。この点につき小柴胡湯に関してはT細胞コロニー形成促進作用並びにIL-1産生亢進作用<sup>19)</sup>、ヒト単核球からの $\text{INF-}\gamma$ 産生の誘導促進作用<sup>20)</sup>および慢性肝炎患者 soluble IL-2 receptor産生亢進<sup>21)</sup>などいずれも小柴胡湯のT

リンパ球機能の賦活作用を示唆する報告があり、今回の小柴胡湯に関する結果もこうした作用を反映したものと思われる。従って柴朴湯のリンパ球反応亢進に及ぼす有意な抑制効果は小柴胡湯および半夏厚朴湯の相加・相乗作用といったものではなく両剤の配合による新たな薬理効果によるものであることが示唆され、今後構成生薬の個々の薬理作用の解明を進めてゆく上でも、こうした方剤としての特有の薬理作用を十分考慮した多面的な検討が必要と思われる。また、今回の検討において小青竜湯にはリンパ球に対する有意な作用はほとんど認められず、本剤に関してはモルモット平滑筋の弛緩作用および抗ヒスタミン作用並びにラットにおける PCA 反応の抑制効果の報告<sup>22)</sup>があり、小青竜湯の主な薬理作用は I 型アレルギー反応の抑制と思われた。

好中球に及ぼす作用の検討では、柴朴湯に LTC<sub>4</sub> および O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生能に対する明かな抑制効果が認められ、添加実験における本剤の 50% 抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) は LTC<sub>4</sub> 産生能では 500 μg/ml、O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生能では 10 μg/ml であり、O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生能に対してより強い抑制効果が認められた。また小柴胡湯には LTC<sub>4</sub> および O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生能とも柴朴湯に勝る抑制作用がみられたが、本剤に関しては phospholipase A<sub>2</sub> 活性の抑制によりアラキドン酸遊離および LTC<sub>4</sub> 産生が抑制される<sup>23)</sup>という報告や好中球の活性酸素産生能の抑制効果に関する報告<sup>24)</sup>などがあり、小柴胡湯が従来より種々の急性・慢性の炎症性疾患で臨床効果を挙げてきた理由とも考えられる。また、小青竜にも好中球の LTC<sub>4</sub> および O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生能に対しては軽度の抑制効果が認められた。以上よりリンパ球反応亢進に基づく IV 型アレルギー反応の抑制には柴朴湯が、好中球の活性化による炎症反応の抑制には小柴胡湯が最適で、柴朴湯や小青竜湯もかなり有効であることが示唆された。なお本研究で判明した好中球からの LTC<sub>4</sub> 及び O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生に及ぼす柴朴湯の抑制効果に関しては、5-lipoxygenase の阻害作用に基づくのか、あるいは小柴胡湯の如くリポコルチン様の特殊蛋白質合成<sup>25)</sup>を介した phospholipase A<sub>2</sub> 活性の抑制によるのかどうかの検討が今後必要であろう。

さて、重症難治性喘息の病態におけるリンパ

球および好中球の関与については、教室の一連の研究より以下のことが判明している。すなわち重症難治性喘息患者の気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中のリンパ球は、非難治群のそれに比しカンジダ抗原に対する幼若化反応は亢進しており<sup>26)</sup>、さらにカンジダ抗原による IL-2 及び好中球遊走活性 (Neutrophil chemotactic activity, NCA) の産生能の亢進が認められ<sup>10)</sup>、好中球の局所動員に肺局所リンパ球が一役を担っていることが想定されている。また重症難治群での BALF においては好中球比率の増加が特徴的であり<sup>22,27)</sup>、その好中球比率と器質的非可逆的組織病変を伴う末梢血気道障害の程度とが正の相関を示し<sup>21,28)</sup>、さらに末梢血好中球の LTC<sub>4</sub> および O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生能は非難治群に比べて重症難治群で有意な亢進が認められている<sup>21,6)</sup>。以上より重症難治性喘息の病態には、カンジダ感作リンパ球による IV 型アレルギー反応並びに好中球などの顆粒球から産生される Chemical mediator による炎症反応が深く関わっているものと思われる。さらに近年、諸家の研究により炎症の場におけるリンパ球と好中球の密接な関係が明らかにされており、例えば Interleukin 8 (IL-8)<sup>29,30)</sup>は、好中球の走化活性のみならず活性酸素放出を誘導し<sup>31)</sup>、また INF-γ も好中球に直接作用して O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生能、殺菌能および貪食能を亢進させることが報告されている<sup>32)</sup>。なお今回 IV 型アレルギー反応の指標とした IL-2 は INF-γ の産生能誘導<sup>33)</sup>を介して好中球活性化に関わるものと思われる。

かかる観点から今回著者は重症難治性喘息患者を対象にリンパ球に対する作用として IL-2 産生能および IL-2 R 発現を、好中球に対する作用として LTC<sub>4</sub> および O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生能を指標として柴朴湯の薬理作用を他の漢方薬との比較において検討した結果、本剤にリンパ球のみならず好中球の反応亢進に対しても抑制効果が認められたことから、柴朴湯は重症難治性喘息の病態に基づいた有用な治療剤であることが示唆された。

## 結 論

成人の重症難治性喘息患者を対象に末梢血リンパ球および好中球の各種反応性に及ぼす柴朴

湯とその成分である小柴胡湯および半夏厚朴湯、並びに小青竜湯の影響を検討し以下の結果を得た。

- (1) 患者末梢血リンパ球のカンジダ抗原による IL-2 産生能は柴朴湯により有意に抑制されたのに比し ( $p < 0.01$ ), 小柴胡湯および半夏厚朴湯では有意な抑制効果はみられず逆に増強効果も認められた。また小青竜湯ではほとんど影響はみられなかった。
- (2) 患者末梢血リンパ球のカンジダ抗原による IL-2 receptor 発現に対しては, IL-2 産生能と同様に柴朴湯のみに有意な抑制効果が認められ ( $p < 0.05$ ), 小柴胡湯, 半夏厚朴湯並びに小青竜湯には有意な抑制作用はみられなかった。
- (3) 重症難治性喘息患者 7 例に柴朴湯を 2~3 ヶ月間内服投与したところ臨床的有効例 5 例に投与前に比し投与後に末梢血好中球の LTC<sub>4</sub> 産

生能の低下傾向が認められた。

- (4) 患者末梢血好中球の LTC<sub>4</sub> および O<sub>2</sub><sup>-</sup> 産生能は柴朴湯により濃度依存性に抑制され, 他の漢方薬との比較では小柴胡湯に最も強い抑制効果がみられ, 小青竜湯にも軽度の抑制効果が認められた。

以上より柴朴湯は重症難治性喘息の治療目標によく合致した薬剤であり, ステロイドに比べ重篤な副作用がない点からも本剤は今後期待すべき治療薬であると考えられ, またステロイドとの作用機序の異同も含めた薬理作用のさらなる解明が望まれる。

稿を終えるにあたり御指導御校閲を賜りました恩師木村郁郎教授に深謝致しますと共に, 終始懇親なる御指導御助言を賜りました高橋 清講師に深謝致します。

## 文 献

- 1) 木村郁郎：喘息の病型とその本質論——中・高年発症型難治性喘息の独立性——日本胸部疾患学会誌 (1983) 21, 181—182.
- 2) 高橋 清：中・高年発症型難治性喘息の機序. 第 4 回免疫薬物療法研究会記録集, 医薬ジャーナル社, 東京 (1989), 110—130.
- 3) 木村郁郎, 高橋 清：老人喘息とその対策. 現代医療 (1985) 17, 2308—2312.
- 4) 月岡一治：カンジダ喘息の発症機序に関する研究, 第 3 報, 吸入誘発型と I 型及び III 型アレルギーの関連について. アレルギー (1985) 34, 289—296.
- 5) 木村郁郎, 谷崎勝朗, 高橋 清, 多田慎也, 駒越春樹, 周藤真康, 貴谷 光, 中山堅吾：気管支喘息におけるカンジダ抗原の特徴——統計学的観察. 日胸疾会誌 (1986) 24, 150—155.
- 6) 松岡 孝：気管支喘息患者好塩基球の免疫グロブリンレセプターと IgG 抗体の作用機序に関する研究, 第 1 編 重症難治性喘息における IgG 抗体の役割に関する検討. 岡山医誌 (1986) 98, 525—535.
- 7) 岡田千春, 高橋 清, 宗田 良, 松岡 孝, 難波一弘, 荒木洋行, 岸本卓巳, 木村郁郎：遅発型気道反応における好塩基球表面結合免疫グロブリンの検討——IgG レセプターの関与を中心に——. アレルギー (1988) 37, 5—11.
- 8) 岡田千春, 小栗栖和郎, 角南宏二, 難波一弘, 田辺耕三, 宗田 良, 多田慎也, 高橋 清, 木村郁郎, 谷崎勝朗：遅発型気道反応における好塩基球免疫グロブリンレセプターの検討. アレルギー (1988) 37, 623.
- 9) 小栗栖和郎, 難波康夫, 猪木篤弘, 高田 稔, 磯島浩二, 難波一弘, 宗田 良, 多田慎也, 高橋 清, 木村郁郎：気管支喘息患者における抗原特異的 IgG サブクラスに関する検討. 胸部疾患学会誌 (1989) 27, 393.
- 10) 宮川秀文：重症難治性喘息における IV 型アレルギーの関与について——カンジダ抗原による IL-2 産生能と好中球遊走活性——. アレルギー (1988) 37, 12—18.
- 11) 多田慎也：リンパ球. 喘息 (1989) 2, 53—58.
- 12) 富岡眞一, 根本俊和, 中沢次夫, 笹木隆三, 村松 睦：漢方における証の客観的評価の試み——気管支喘息に対する漢方製剤の臨床効果——. 臨と研 (1982) 59, 3659—3664.

- 13) 竹内良夫, 西村葉子, 吉河達祐, 栗山純一, 木村義民, 雑賀寿和: 和漢薬「小青竜湯」の抗アレルギー作用 — 特に既製抗アレルギー剤との比較. アレルギー (1985) **34**, 387—393.
- 14) 栗原正英, 湊 浩一, 中野秀彦, 土屋 智, 滝瀬 淳, 斉藤龍生, 桑原英真, 富岡真一, 中沢次夫, 笹木隆三, 小林節雄: アトピー型の気管支喘息に対する小青竜湯の効果についての臨床的検討. アレルギーの臨 (1987) **7**, 62—64.
- 15) Uchiyama T, Broder S and Waldman TA: monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature human T cells 1. Production of anti-Tac monoclonal antibody and distribution of Tac(+) cells. J Immunol (1981) **126**, 1393—1397.
- 16) 高橋 清, 清水一紀, 難波一弘, 中山堅吾, 岡田千春, 辻 光明, 中藤研一, 周藤真康, 多田慎也, 谷崎勝朗, 木村郁郎: 重症難治性喘息患者における末梢血好中球分画からのロイコトリエン産生能に関する検討. アレルギー (1988) **37**, 322—330.
- 17) Gehman LO and Robb RJ: An ELISA-based assay for quantitation of human interleukin 2. J Immunol Method (1984) **74**, 39—47.
- 18) 太田和雄監修, 野村和弘, 高本 滋編集: フローサイトメトリー — 手法と実際 —. 蟹書房, 東京 (1988).
- 19) 松田重三, 斎藤紀子, 合地研吾, 安部 英: T cell colony 形成能を増強する小柴胡湯構成成分について. 漢方と免疫アレルギー (1988) **1**, 67—75.
- 20) 各務伸一: ヒト末梢血リンパ球の IFN- $\gamma$  産生誘導に対する小柴胡湯の効果. 漢方と免疫アレルギー (1990) **3**, 66—72.
- 21) 恩地森一, 舛本俊一, 中西公王, 宮岡弘明, 堀池典生, 道亮浩二郎, 谷口嘉康, 太田康幸: 小柴胡湯の単核球可溶性 IL-2 R 産生に及ぼす影響. 漢方と免疫アレルギー (1990) **3**, 46—57.
- 22) 梅里義博, 飯倉洋治, 中村祐子: 気管支喘息喘息児と漢方 (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 (1984) **33**, 1047—1052.
- 23) 坂上吉秀, 溝口靖紘, 小林絢三, 森澤成司, 山本祐夫, 大倉靖史: 小柴胡湯のアラキドン酸代謝に及ぼす影響. 漢方と免疫アレルギー (1988) **1**, 58—66.
- 24) 松田重三, 合地研吾, 斎藤紀子: 漢方方剤の免疫学的作用. アレルギーの臨 (1987) **7**, 838—843.
- 25) 大倉靖史, 溝口靖紘, 甲 東担, 森澤成司: 小柴胡湯によるリポコルチン様物質の産生について. 漢方医 (1987) **11**, 20—23.
- 26) 木村郁郎, 武田 昌, 多田慎也, 谷崎勝朗, 高橋 清, 塩田雄太郎, 佐藤 恭, 田村尚彦: 気管支喘息患者の BAL 液中及び末梢血リンパ球の吸入抗原に対する反応性の検討. アレルギー (1984) **33**, 812.
- 27) 木村郁郎: 気管支肺胞洗浄液. 免疫と疾患 (1982) **4**, 329—336.
- 28) 木村郁郎: 気管支喘息における気道洗浄液. 医のあゆみ (1982) **123**, 401—411.
- 29) Yoshimura T, Matsushima K, Oppenheim JJ, et al: Neutrophil chemotactic factor produced by lipopolysaccharide (LPS)-stimulated human blood mononuclear leukocytes: Partial characterization and separation from interleukin 1 (IL-1). J Immunol (1987) **139**, 788—793.
- 30) Westwick J, Li SW and Camp RD: Novel neutrophil stimulating peptides. Immunol Today (1989) **10**, 146—147.
- 31) Peveri P, Walz A and Dewald B: A novel neutrophil-activating factor produced by human mononuclear phagocytes. J Exp Med (1988) **167**, 1547—1559.
- 32) Berton G, Zeni L, Cassatella MA and Rossi F: Gamma interferon is able to enhance the oxidative metabolism of human neutrophils. Biochem Biophys Res Commun (1986) **138**, 1276—1282.
- 33) Kasahara T, Hooks JJ and Dougher SF and Oppenheim JJ: Interleukin 2-mediated immune interferon (IFN-) production by human T cells and T cell subsets. J Immunol (1983) **130**, 1784—1789.

**Studies on the treatment for intractable asthma  
Part 2. Evaluation of the pharmacological action  
of various Kampo Medicines on lymphocyte  
and neutrophil functions in  
intractable asthmatics**

**Ryosuke EDA**

**Second Department of Internal Medicine,**

**Okayama University Medical School,**

**Okayama 700, Japan**

**(Director : Prof. I. Kimura)**

The pharmacological action of Sho-saiko-to and Hange-koboku-to, components of Saiboku-to, as well as that of Sho-seiryu-to were compared with that of Saiboku-to and examined in intractable asthmatics with respect to both lymphocyte functions, including interleukin 2 (IL-2) production and IL-2 receptor expression in peripheral blood lymphocytes stimulated by *Candida*, and on neutrophil functions, including leukotriene C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) and superoxide(O<sub>2</sub><sup>-</sup>) production by peripheral blood neutrophils.

The results revealed, first, that, Sho-saiko-to, Hange-koboku-to, and Sho-seiryu-to did not have significant suppressive effects on IL-2 production and IL-2 receptor expression by *Candida*, though Saiboku-to caused significant suppression of these same parameters. Second, after 2 or 3 months oral administration to intractable asthmatics Saiboku-to (TJ-96) suppressed LTC<sub>4</sub> production by peripheral blood neutrophils in response to *Candida* and Ca-ionophore. Third, in vitro, Saiboku-to caused dose-dependent suppression of both LTC<sub>4</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> production by peripheral blood neutrophils. Sho-saiko-to and Sho-seiryu-to also had suppressive effects on both LTC<sub>4</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> production, with Sho-saiko-to causing the strongest suppression among these drugs.

These results indicate that Saiboku-to might be useful in the treatment of intractable asthma due to its suppressive effect on type IV allergy caused by lymphocyte activation by *Candida*. Moreover, its inhibitory effect of LTC<sub>4</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> production by neutrophils prevents prolonged broncho-constriction and irreversible changes in small airways.