

## 和漢薬成分の免疫薬理学的作用に関する研究(肝炎発症予防効果を中心として)

著者	高野 文英
号	353
発行年	1994
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/15588">http://hdl.handle.net/10097/15588</a>

氏 名（本籍） <sup>たか</sup>高 <sup>の</sup>野 <sup>ふみ</sup>文 <sup>ひで</sup>英

学 位 の 種 類 博 士（薬 学）

学 位 記 番 号 薬 第 353 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 6 年 11 月 16 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 論 文 題 目 和 漢 薬 成 分 の 免 疫 薬 理 学 的 作 用 に 関 する 研 究  
（ 肝 炎 発 症 予 防 効 果 を 中 心 と して ）

論 文 審 査 委 員

	（ 主 査 ）			
	教 授 野 副 重 男	教 授 大 内 和 雄		
			教 授 大 泉 康	

## 論文内容要旨

いくつかの生薬を組み合わせることにより成り立っている漢方方剤は、種々の疾患に用いられ、治療効果を示す。したがって、個々の生薬中に存在する主成分あるいは副成分は、漢方方剤や生薬に定義されている疾病に対して有効性を示していると考えられる。そこで著者は、生薬の中でも特に抗炎症効果や肝炎の治療を目的として適用されている数種類の生薬、すなわち、秦艽 (*Gentiana macrophylla*, Gentianaceae), 中国産防己 (*Stephania tetrandra* と *Stephania cepharantha*, とともに Menispermaceae), 日本産防己 (*Sinomenium acutum*, Menispermaceae), および甘草 (*Glycyrrhiza glabra*, Leguminosae) の主成分について、主に免疫系の介在により発症する実験的肝炎モデルへの有効性と活性成分の免疫薬理学的作用機序の解析を試みた。

第1に、秦艽の主成分である secoiridoid 配糖体の gentiopicroside (Chart 1) には、四塩化炭素あるいは endotoxin (LPS) 投与により発症する肝障害を抑制する作用があることが判明した。この作用機序として、活性化された macrophage (M $\phi$ ) による腫瘍壊死因子 (TNF) や interleukin-1 (IL-1) などの炎症性サイトカイン産生や脂質過酸化反応を gentiopicroside が抑制するためであると考えられた。

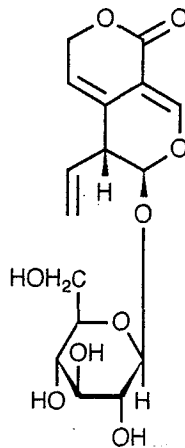
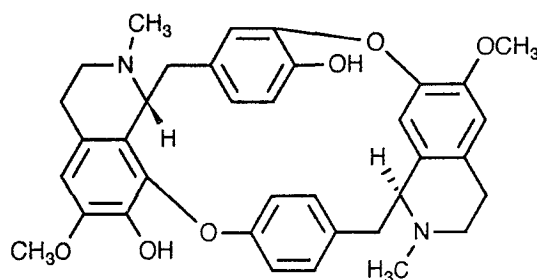


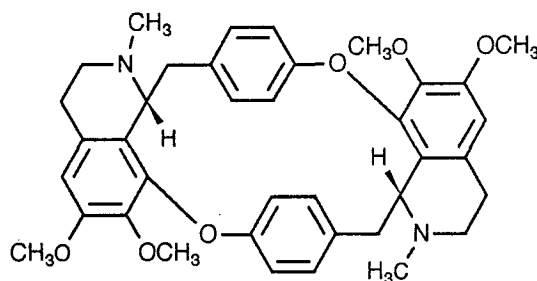
Chart 1. Structure of gentiopicroside

第2に、中国産防己の主アルカロイドである bisbenzylisoquinoline alkaloid (BBI alkaloid) の chondocurine, cycleanine, および tetrandrine (Chart 2) には、LPS 誘発肝障害を顕著に抑制する作用があることが明らかになった。さらに、これらの BBI alkaloid 類は LPS によって強く活性化された M $\phi$  による TNF や IL-1 の炎症性サイトカインおよび活性酸素の産生を抑制する作用のあることも見いだした。したがって、BBI alkaloid 類はこれらの炎症性 mediator の産生を強く抑制することにより LPS 誘発肝障害に対して有効性を示すと考えられた。また、これらの BBI alkaloid 類には M $\phi$  による一酸化窒素 (NO) の産生を顕著に抑制する作用があることも見いだした。さらに、BBI alkaloid 類は

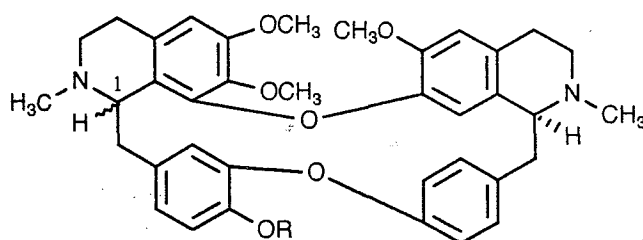
LPSにより誘導されるショック症状を軽減する作用があることが明らかになったが、その作用機序として炎症性サイトカインだけでなく NO の産生も抑制するためであることが示唆された。



chondocurine



cycleanine



R=CH<sub>3</sub>, 1-R: isotetrandrine

R=CH<sub>3</sub>, 1-S: tetrandrine

R=H, 1-R: berbamine

**Chart 2.** Structures of bisbenzylisoquinoline alkaloids.

第3に、日本産防己の主アルカロイドである epimorphinan アルカロイドの sinomenine (Chart 3) にも LPS による肝障害の発症を有意に抑制する作用があることを見いだした。本化合物も BBI alkaloid 類と同様に Mφ による TNF の産生や活性酸素の遊離を強く抑制する作用があることが明らかになり、これらの作用が LPS 誘発肝障害の発症を抑制する作用機序となっていることが示唆された。しかし、BBI

alkaloid 類には Mφにおいて Ca<sup>2+</sup> influx を抑制する作用があるのに対して, sinomenine にはこの効果は全く認められなかった。したがって, BBI alkaloid 類と sinomenine の両者をもつ薬理効果を比較した場合, 肝障害の発症を抑制するという点での活性は同一であるが, 両者の細胞レベルにおける作用機序は細部において異なる可能性が示唆された。これらの結果から, 中国産防己と日本産防己はともに抗炎症効果を有するという古来の言い伝えについて現代薬理学的な手法を用いることにより証明することができた。さらに, これらの2種類の防己は植物基原も異なり, また, 含有するアルカロイドの構造が全く異なるにもかかわらず経験的に同一の疾病に処方する, いわゆる同病異方を行う習慣にあるが, 著者の研究から BBI alkaloid 類も sinomenine もともに薬理効果は同様であることが明らかになり, 長年にわたる中医学や漢方医学の経験医学の正当性を一部, 薬理生化学的に立証できたと考えられる。

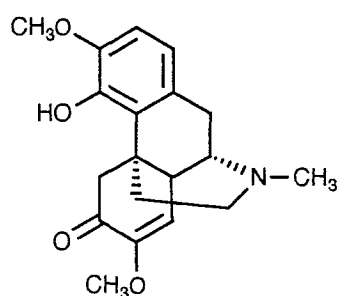


Chart 3. Structure of sinomenine

第4に, 甘草は漢方方剤の70~80%の処方中に配合される重要な生薬の一つであり, この主成分である glycyrrhizin (Chart 4) は多種多様な生物活性を有していることから, 著者は glycyrrhizin の生物活性の中でも特に biological response modifier (BRM) と肝障害抑制作用に着目して, 本成分の Mφに対する活性化作用について癌細胞障害活性と NO 産生を指標にして解析した。その結果, glycyrrhizin を腹腔内投与してから数日後に得た Mφは, glycyrrhizin を投与しないで得た Mφと比較して NO 産生が顕著に増強していることを見いだした。さらに, glycyrrhizin により活性化された Mφは活性化を受けていない Mφに比べて2~3倍強い癌細胞障害活性を示した。しかし, glycyrrhizin によって活性化された Mφによる NO 産生と癌細胞障害活性は, いずれも LPS の triggering を必要とした。また, 活性化を受けていない Mφを glycyrrhizin 存在下で培養しても NO 産生と癌細胞障害活性は全く上昇しなかった。したがって, glycyrrhizin による Mφの活性化の作用機序は, Mφに対して glycyrrhizin が直接作用するのではなく, glycyrrhizin が生体内の何らかの Mφ活性化因子を誘導することにより Mφを活性化させる間接的なメカニズムの介在があることが示唆された。また, glycyrrhizin により活性化された Mφが産生する NO の二面的作用から, 今まで作用機序の不明であった glycyrrhizin の BRM 作用 (抗ウイルス活性, 抗癌活性) や肝細胞保護作用の機序について部分的に解明することができた。

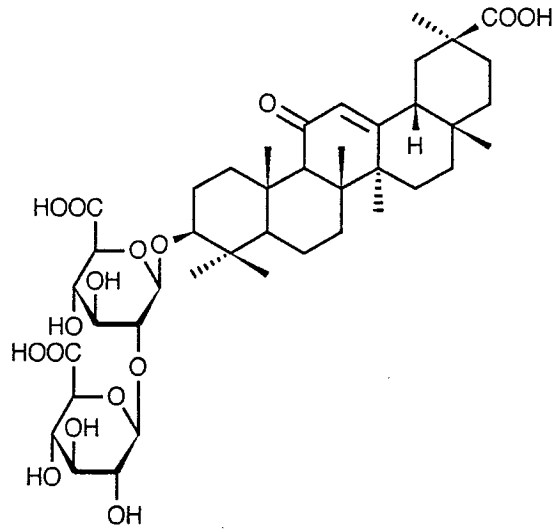


Chart 4. Structure of glycyrrhizin

以上、本研究により gentiopicroside, BBI alkaloid 類, および sinomenine には免疫機序により発症する肝障害を抑制する作用があること, およびそれらの作用機序の一部が明らかになった。今後, これらの生薬主成分による作用機序について詳細に解析することにより, 肝炎治療薬あるいは抗炎症薬開発のための有用な理論が得られるものと思われる。

## 審査結果の要旨

本研究において著者は、4種類の生薬、すなわち秦艽（ジンキョウ、リンドウ科）、中国産防己（タマサキツツラフジとシマハスノハカヅラ、ツツラフジ科）、日本産防己（オオツツラフジ、ツツラフジ科）および甘草（カンゾウ、マメ科）の主成分について、主に免疫系を介して発症する肝炎モデルでの予防効果の検討と、作用機序の解明を試みた。

秦艽の主成分である gentiopicroside は、LPS 誘導肝炎を有意に抑制する活性があることを見出した。本成分が LPS 肝炎に有効性を示すのは、活性化 M $\phi$  による TNF や IL-1 の産生を抑制するためであると解釈された。

中国産防己の主アルカロイドである BBI alkaloid のうち chondocurine と cycleanine に LPS 肝炎を著しく抑制する活性が認められた。これら両者のアルカロイドは M $\phi$  による TNF, IL-1 および活性酸素産生を抑制したことから標的細胞は M $\phi$  であると推定した。また、本アルカロイドは LPS 刺激腹腔 M $\phi$  による過剰の NO 産生を抑制した。NO 産生の抑制活性は LPS で発症する致命的低血圧を抑制する作用機序として重要である。

日本産防己の主アルカロイドである sinomenine にも LPS 肝炎の発症を抑制する活性を認めた。本成分も BBI alkaloid の場合と同様に M $\phi$  による TNF 産生と活性酸素の産生を抑制した。従って、BBI alkaloid を主成分とする中国産防己と sinomenine を主成分とする日本産防己は、何れも主成分を異にするにもかかわらず、抗炎症効果は同一であると考えられる。

甘草の主成分である glycyrrhizin について、本成分が示す BRM 作用と肝細胞保護作用に着目し、M $\phi$  の活性化と NO 産生の増強効果について検討した。その結果 glycyrrhizin 誘導腹腔 M $\phi$  は常在性腹腔 M $\phi$  に比べて LPS 刺激に強く応答し NO 産生を亢進した。さらに、glycyrrhizin 誘導腹腔 M $\phi$  は常在性腹腔 M $\phi$  よりも比較的強く癌細胞の増殖を抑制した。ただし、本成分により活性化した M $\phi$  による NO 産生の亢進や癌細胞増殖抑制活性の発現には LPS が必要であった。これらの結果から、本成分が示す抗ウイルス活性や肝細胞保護作用などの作用機序について、M $\phi$  の産生する生理的な量の NO の作用により説明することができた。

以上、著者の用いた成分のうち数種類については免疫系を介する肝炎に対して有効性を認めた。また、これらの成分がもつ薬理学的作用機序をある程度明らかにすることができた。従って、これらの成分は肝炎発症の作用機序や M $\phi$  の機能を解析する上で有用なツールとなる可能性がある。よって本論文は博士（薬学）の学位論文として合格と認める。