

ヒト末梢血単核細胞のインターロイキン 4 産生に及ぼす小柴胡湯の影響

木岡 清英,^{a)} 溝口 靖紘,^{a)} 長谷川 格,^{a)} 筒井ひろ子,^{a)}
小林 絢三,^{a)} 森沢 成司^{b)}

^{a)}大阪市立大学医学部第三内科学教室, ^{b)}大阪市立大学医学部第一生化学教室

Effect of Sho-saiko-to on interleukin 4 production from human peripheral blood mononuclear cells

Kiyohide KIOKA,^{a)} Yasuhiro MIZOGUCHI,^{a)} Itaru HASEGAWA,^{a)} Hiroko TSUTSUMI,^{a)}
Kenzo KOBAYASHI^{a)} and Seiji MORISAWA^{b)}

^{a)}The Third Department of Internal Medicine, Osaka City University Medical School

^{b)}The First Department of Biochemistry, Osaka City University Medical School

(Received April 2, 1990. Accepted August 2, 1990.)

Abstract

Previously, we reported that Sho-saiko-to increased the production of interleukin (IL)-1, IL-2, IL-3, and IL-6. These results suggested Sho-saiko-to played a role as an immunopotentiator. We examined the effect of Sho-saiko-to on the production of IL-4 from the human peripheral blood mononuclear cells. As a result, Sho-saiko-to increased the IL-4 production.

Key words Sho-saiko-to (Syô-saiko-tô), interleukin 4, biological response modifier.

Abbreviations HB, hepatitis B; IL, interleukin; Con A, concanavarin A.

緒 言

漢方方剤の1つである小柴胡湯は慢性肝炎の治療薬として既に臨床的にその有用性が確認されている。¹⁾すなわち、B型慢性肝炎患者に小柴胡湯を投与すると血清トランスアミナーゼ値が低下し、HBe抗原陽性からHBe抗体陽性へとseroconversionすることが示されている。この小柴胡湯の作用機構の1つとして免疫賦活作用が考えられており、¹⁾著者らも既に小柴胡湯が*in vitro*でinterleukin (IL)-1, IL-2, IL-3およびIL-6の産生を増強することを明らかにした。^{2,5)}今回は抗体産生系に深く関与するIL-4の産生に対する小柴胡湯の影響について検討した。

材料と方法

4人の健常ヒト末梢血をヘパリン加で採取して、

Ficoll-Conray 重層遠心法で単核細胞を分離した。この単核細胞を10%ウシ胎児血清を含むRPMI 1640 (Nissui Co., Tokyo) に浮遊させ、細胞濃度を 1×10^6 cells/ml に調整した。この細胞浮遊液に $1 \mu\text{g/ml}$ の concanavarin A (Con A, Sigma, St. Louis, MO) および各種濃度 (0-100 $\mu\text{g/ml}$) の小柴胡湯を添加、または非添加で37°Cで48時間培養した。なお、小柴胡湯は株式会社ツムラより供与されたエキスを原末を用いた。培養後、細胞培養上清を採取し、上清中のIL-4濃度をIL-4測定キット (Quantikine human IL-4 Immunoassay, R & D SYSTEMS, Minneapolis, MN) を用いて測定した。すなわち、抗ヒトIL-4モノクローナル抗体でコーティングした96穴ELISA用プレートにIL-4標準液および検体をそれぞれ200 μl ずつ各穴に注入し、室温で2時間反応させた。次いで、洗浄液で各穴を3回洗浄し、ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIL-4ポリクローナル抗体溶液を200 μl ずつ各穴に注入し、室温で2時間反応させた。反応後、洗浄液

*〒545 大阪市阿倍野区旭町1-5-7
1-5-7 Asahi-machi, Abeno-ku, Osaka 545, Japan

で各穴を3回洗浄し、次いで、基質 (tetramethylbenzidine) 溶液 200 μ l を各穴に注入し、室温で20分間反応させた。反応後、スペクトロフォトメーター (EAR400AT, SLT 社製, Austria) で、450 nm の吸光度を測定した。標準液の吸光度から標準曲線を作製し、検体中の IL-4 濃度を算出した。

結 果

Con A 非添加で末梢血単核細胞を培養すると細胞培養上清中には IL-4 は検出されなかった。しかし、小柴胡湯を添加して培養すると IL-4 の産生が誘導され、12.5 μ g/ml の小柴胡湯の添加でその産生誘導は最高値 (350 $\pm$ 10 pg/ml, $n = 4$) を示した (Fig. 1)。

一方、Con A 添加で末梢血単核細胞を培養すると、細胞培養上清中に IL-4 は 80 $\pm$ 10 pg/ml ($n = 4$) 検出された。しかしながら、さらに小柴胡湯を添加しても IL-4 産生の増強は認められなかった (Fig. 1)。

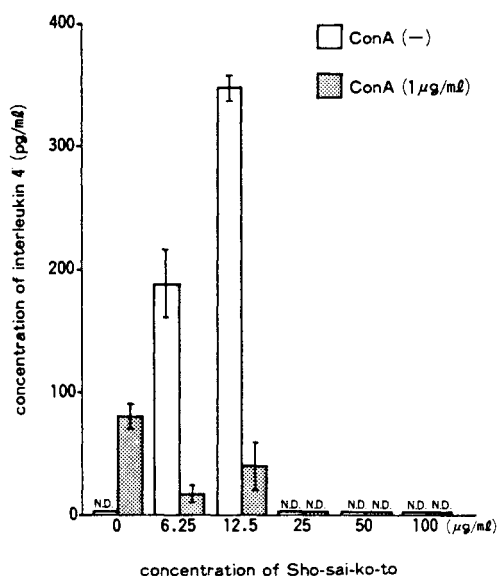


Fig. 1 The effect of Sho-sai-ko-to on the production of interleukin 4 from human peripheral blood mononuclear cells. All values were mean $\pm$ S.D. of 4 experiments. N.D. : not detected.

考 察

漢方方剤の1つである小柴胡湯は肝臓用薬として

既にその有用性が臨床的に明らかにされており¹⁾、その作用機構の一部に免疫賦活作用が関与する¹⁾ことがしめされている。著者らは既に末梢血単核細胞の IL-1, IL-2, IL-3, IL-6 の産生が小柴胡湯の添加によって *in vitro* で増強されることを明らかにした。^{2,5)} 今回、B細胞の増殖を介して抗体産生に関与する IL-4⁶⁾ について検討したが、同様に小柴胡湯単独でその産生を増強した。しかし、Con A 同時添加では小柴胡湯は IL-4 産生を増強しなかった。このことは恐らく小柴胡湯には多数の成分が含まれていることによると考えられる。すなわち、小柴胡湯単独では helper T cell に作用して IL-4 産生を増強するが、Con A 同時添加では Con A によって誘導される suppressor T cell の活性を小柴胡湯が増強するために IL-4 産生の増強が起こらないことや、小柴胡湯成分中に抑制因子が含まれていて小柴胡湯が免疫調節作用を発現した結果と考えられる。なお、IL-4 は B細胞の IgG₁, IgE の産生促進と、IgG₃, IgG₂b の産生を抑制することが知られている⁷⁾。したがって、今後は小柴胡湯の各種免疫グロブリン産生に及ぼす影響についても詳細な検討が必要であろう。

いずれにしても、小柴胡湯は単独で IL-4 産生を増強することから、抗体産生増強作用を有することが推測され⁸⁾、B型慢性肝炎患者に小柴胡湯を投与すると HBe 抗原陽性から HBe 抗体陽性へと seroconversion することを説明する1つの有力な証拠であると考えられた。

結 論

小柴胡湯は *in vitro* で健常ヒト末梢血単核細胞からの IL-4 産生を増強した。しかし、Con A 刺激した健常ヒト末梢血単核細胞からの IL-4 産生には影響しなかった。

文 献

- 1) Mizoguchi, Y., Sakagami, Y., Okura, Y., Yamamoto, S. and Morisawa, S.: Effects of Sho-sai-ko-to on the metabolism of arachidonic acid. "Recent Advances in the Pharmacology of Kanpo (Japanese Herbal) Medicine" (Eds. by Hosoya, E. and Yamamura, Y.), Excerpta Medica, Amsterdam, Princeton, Geneva, Tokyo, pp. 396-404, 1989.
- 2) Morisawa, S., Mizoguchi, Y., and Yamamoto, S.: Effect of Xiao-Chai-Hu-Tang on antibody responses in vitro. "Recent Advances in Traditional Medicine in

- East Asia," *Excerpta Medica*, Amsterdam, Princeton, Geneva, Tokyo, pp. 106-110, 1985.
- 3) 溝口靖紘, 柴田悠喜: 抗腫瘍免疫機構に及ぼす小柴胡湯の影響. 漢方医学 **11**(4), 19-26, 1989.
- 4) 溝口靖紘, 申 東桓: マウスにおけるインターロイキン 3 の産生及び応答能に及ぼす小柴胡湯の影響. 漢方医学 **13**(3), 83-86, 1989.
- 5) 長谷川格, 溝口靖紘, 筒井ひろ子, 市川裕三, 河田則文, 森沢成司, 山本祐夫: マウス脾細胞のインターロイキン 6 産生に及ぼす小柴胡湯の影響. 和漢医薬学会誌 **7**, 24-27, 1990.
- 6) Howard, M., Farrar, J., Hilfiker, M., Johnson, B., Takatsu, K., Hamaoka, T. and Paul, W.E.: Identification of a T cell derived B cell growth factor distinct from interleukin 2. *J. Exp. Med.* **155**, 914-923, 1982.
- 7) Lee, F.: Isolation and characterization of a mouse interleukin cDNA clone that expresses B-cell stimulatory factor 1 activities and T-cell and mastcell-stimulating activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **83**, 2061-2065, 1986.
- 8) 池本吉博, 溝口靖紘, 新井孝之, 山本祐夫, 森沢成司: 小柴胡湯および大柴胡湯の *in vitro* における抗体産生に及ぼす影響. 和漢医薬学会誌 **1**, 235-242, 1984.