

ヒト末梢血単核細胞の *in vitro* における IL-8 産生に及ぼす小柴胡湯の影響三木 俊治,*^{a)} 三木 善次,^{b)} 稲城安津子,^{c)} 山本 昌弘^{a)}^{a)} 日本生命済生会附属日生病院第三内科, ^{b)} 三木医院, ^{c)} SRL 株式会社細胞免疫部Effect of Sho-saiko-to (Xiao-Chai-Hu-Tang) on the production of IL-8 by peripheral blood mononuclear cells *in vitro*Shunji MIKI,*^{a)} Yoshitsugu MIKI,^{b)} Atsuko INASHIRO^{c)} and Masahiro YAMAMOTO^{a)}^{a)} The Third Department of Internal Medicine, Nissei Hospital^{b)} Miki Clinic^{c)} Dept. of Cellular Immunology SRL Inc, Tokyo, Japan.

(Received January 6, 1992. Accepted February 27, 1992.)

Abstract

The effect of Sho-saiko-to on the production of interleukin 8 (IL-8) by human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) was studied.

When PBMCs were cultured with Sho-saiko-to *in vitro*, the production of IL-8 was markedly increased at concentrations of 25 to 400 $\mu\text{g/ml}$ of Sho-saiko-to in a dose-dependent manner.

From the result, IL-8 might be involved in actions of Sho-saiko-to.

Key words Sho-saiko-to (Syô-saiko-tô), interleukin 8, peripheral blood mononuclear cells.

Abbreviation Sho-saiko-to (Xiao-Chai-Hu-Tang), 小柴胡湯.

緒 言

小柴胡湯は、炎症性疾患において、好中球の機能を抑制し、組織障害作用を抑制する抗炎症作用を発揮することが知られているが¹⁾、一方で、リンパ球を介して好中球の機能を高めて、生体を防御する方向にも働くと考えられている²⁾。

リンパ球やマクロファージなどにより産生される interleukin-8 (IL-8) は、そもそも白血球遊走因子として単離精製されたが、その後様々な生物活性を有することが明らかにされ、炎症形成における重要なメディエーターと考えられ、生体の感染防御に働く一方、その過剰な産生が種々の炎症性疾患の原因となることが推定されている³⁾。

今回我々は、小柴胡湯の生体内での作用の一部が IL-8 を介して行なわれているのではないかと推察し、両者の関係を *in vitro* においてヒト末梢血単核

細胞 (Peripheral blood mononuclear cells: PBMC) を用いて調べた結果、*in vitro* において小柴胡湯が PBMC の IL-8 産生を有意に増加させることを認めたので、ここに報告する。

材料と方法

(1) **PBMC の分離**：健常人 3 人より得たヘパリン加静脈血より Ficoll-Hypaque の比重遠心法により分離した。

(2) **PBMC の IL-8 産生能に対する小柴胡湯の影響**：10% ウシ胎児血清 (FCS) を含む Eagle MEM 培養液に、 2×10^6 cells/ml で浮遊した PBMC に、6.25~400 $\mu\text{g/ml}$ の濃度の小柴胡湯懸濁液 [(株)ツムラ社製乾燥エキス粉末を 10% FCS を含む Eagle MEM 培養液で 37°C 30 分間加温して溶解後 Nuclear Filter (0.45 μm , ADVANTEC・TOYO 製) を通したもの] を添加し、total 1 ml と

* 〒550 大阪市西区立売堀 6-3-8
6-3-8 Itachibori, Nishi-ku, Osaka 550, Japan

し、24 well 培養プレート (Becton Dickinson 社製) 上にて、5% CO₂ 大気下 37°C で 24 時間培養し、その上清を IL-8 サンプルとして使用した。また Positive control として、小柴胡湯の代わりに、Lipopolysaccharide (LPS) [1 µg/ml, List Biological Laboratories, Inc. U.S.A.] を加えた培養上清中の IL-8 を測定した。

(3) IL-8 測定: Quantikine Human IL-8 Immunoassay kit (Research and Diagnostics Systems, Inc. Minneapolis U.S.A.) を用いて、Sandwich enzyme immunoassay technique で、株式会社エスアールエルにて測定された。

(4) 統計学的検討: 実験データはすべて mean ± standard deviation (S.D.) で表した。統計学的有意差は *t* 検定を応用し、*p* < 0.05 を有意とした。

結 果

PBMC 培養液中に種々の濃度の小柴胡湯を添加培養した時の上清中の IL-8 濃度を測定した結果を Fig. 1 に示す。PBMC 単独で培養した培養上清中には、35.8 ± 6.1 ng/ml の IL-8 が検出されたが、小柴胡湯添加により、濃度依存性に IL-8 の増加が確認され、その値は 25 µg/ml 以上の濃度において PBMC 単独培養時に比べ有意 (*p* < 0.05) に高かった。コントロールとして LPS (1 µg/ml) を加えた

PBMC 培養上清中の IL-8 は、127.5 ± 28.6 ng/ml であった。

考 察

好中球の遊走活性を有する因子として精製された IL-8 は、リンパ球、マクロファージ、内皮細胞などが IL-1/TNF などの炎症性サイトカインの刺激で産生し、好中球に加え T リンパ球、好塩基球にも遊走作用を示すと共に、好中球の脱顆粒反応、ライソザイム酵素放出、Superoxide 産生を促進させたり、好塩基球からのヒスタミン放出促進作用を持つなど炎症形成での重要なメディエーターと考えられている³⁾。また最近、IL-8 が IL-1 や TNF で活性化された内皮細胞への好中球の接着を阻害し、好中球による内皮細胞障害を防ぐ作用を持つことが報告されている⁴⁾。よって、その適度な産生は異物や細菌等の処理、血管障害予防など生体に好都合に働くと考えられている。

小柴胡湯は、*in vitro* において好中球の活性化を示す化学発光、活性酸素放出を抑制する作用を持つなど^{1,2)} 抗炎症作用を示すことが知られているが、一方で、多核白血球の集合促進による緑膿菌に対する感染防御作用⁵⁾、マイトマイシン C やシスプラチン投与によっておこる白血球減少の副作用軽減作用を示す⁶⁾ など好中球の機能を高めて、生体を防御する方向にも働くと考えられている。小柴胡湯が PBMC の IL-8 産生能を増加させた今回の結果は、小柴胡湯の多彩な作用の一部に IL-8 が関与しているであろうことを示唆している。

しかし、IL-8 の体内での過度の産生は慢性関節リウマチ、乾癬、喘息発作、クローン病など好中球浸潤を伴う非感染性疾患の原因になると考えられており³⁾、それらの疾患に対して臨床症状の改善を期待されている小柴胡湯の作用としては、矛盾するように思われるが、生体内での複雑な IL-8 産生調節機構の存在が予想される。

小柴胡湯は、IL-8 産生の刺激物質となる IL-1 のマクロファージによる産生を増加させる⁷⁾ ことより、今回明らかになった小柴胡湯の IL-8 産生増加作用は、IL-1 を介するものとも考えられるが、TNF, IL-6 など他の炎症性サイトカインを含め、詳細な検討が必要である。また、小柴胡湯の含有成分のうち、どの成分による効果であるのか、他の類似方剤にも同様の効果があるのかなど、残された課題は多い。

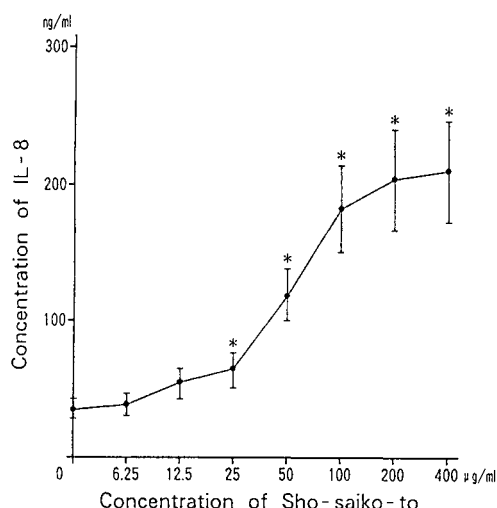


Fig. 1 Effect of Sho-saiko-to on the production of IL-8 by peripheral blood mononuclear cells (*n* = 3) *in vitro*. Each value represents the mean ± S.D. * *p* < 0.05 vs. control.

結 論

ヒト末梢血から分離した単核細胞に *in vitro* で小柴胡湯を加えて培養すると、培養上清中の IL-8 濃度が著明に増加した。小柴胡湯が単核細胞の IL-8 産生を増加させたと考ええる。

文 献

- 1) 斎藤紀子, 塚本美代, 川杉和夫, 合地研吾, 松田重三, 安部 英: 小柴胡湯の好中球活性酸素による内皮障害阻止作用. 和漢医薬学会誌 **7**, 374-375, 1990.
- 2) 合地研吾, 長田 恵, 斎藤紀子, 松田重三, 木下忠俊, 風間睦美, 安部 英: 好中球化学発光に及ぼす小柴胡湯の影響. 和漢医薬学会誌 **2**, 134-135, 1985.
- 3) 菱沼 敦, 松島綱治: 新しい白血球遊走活性因子, インターロイキン (IL-8). *Medical Immunology* **20**, 305-311, 1990.
- 4) Gimbrone, M. A., Obin, M. S., Brock, A. F., Luis, E. A., Hass, P. E., Hébert, C. A., Yip, Y. K., Leung, D. W., Lowe, D. G., Kohr, W. J., Darbonne, W.C., Bechtol, K. B. and Baker, J.E.: Endothelial interleukin-8: A novel inhibitor of leukocyte-endothelial interactions. *Science* **246**, 1601-1603, 1989.
- 5) 川喜多卓也, 山田 亮, 光山正雄, 熊沢義雄, 野本亀久雄: 小柴胡湯の緑膿菌に対する感染防御効果. 和漢医薬学会誌 **3**, 292-293, 1986.
- 6) 伊藤 均: 抗腫瘍作用の増強と副作用. 耐性軽減効果よりみた漢方方剤の臨床応用の可能性. 漢方医学 **13**, 15-19, 1989.
- 7) 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**, 19-26, 1987.