

桂枝加朮附湯, 桂枝二越婢一湯加附子, 桂枝芍薬知母湯の抗炎症作用

(I) 実験炎症モデルに対する抑制効果

加野 軒作^{*a)}, 安田 晶子^{a)}, 金本 郁男^{a)}, 足立伊左雄^{a)},
上野 雅晴^{a)}, 堀越 勇^{a)}, 寺澤 捷年^{b)}

富山医科薬科大学附属病院薬剤部^{a)}

富山医科薬科大学附属病院和漢診療部^{b)}

Antiinflammatory Effects of Keisi-ka-zyutubu-tô,
Keisi-ni-eppi-iti-tô and Keisi-syakuyaku-timo-tô

(I) Inhibitory Effects on Inflammatory Models in Rats

Kensaku KANO,^{*a)} Akiko YASUDA,^{a)} Ikuo KANAMOTO,^{a)} Isao ADATI,^{a)}
Masaharu UENO,^{a)} Isamu HORIKOSI,^{a)} Kasutosi TERASAWA^{b)}

Department of Hospital Pharmacy, Toyama Medical and Pharmaceutical University ^{a)}

Department of Oriental Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University ^{b)}

(Received August 30, 1984)

Abstract

Keisi-ka-zyutubu-tô (Gui-Zhi-Jia-Shu-Fu-Tang), Keisi-ni-eppi-iti-tô (Gui-Zhi-Er-Yue-Bei-Yi-Tang) and Keisi-syakuyaku-timo-tô (Gui-Zhi-Shao-Yao-Zhi-Mu-Tang) are the chinese medicinal prescriptions which have been used for chronic inflammatory diseases. To clarify the mechanism of antiinflammatory effects of these chinese medicines, we examined the effects on two inflammatory models, Carrageenin induced edema and Adjuvant Arthritis in rats.

These prescriptions significantly inhibited both inflammatory models. Among them, Keisi-ka-zyutubu-tô showed the strongest inhibitory effect.

The mechanism of the actions of these medicines might be accounted for by the immunological reaction and the pathways through chemical mediators.

Keywords Keisi-ka-zyutubu-tô (Gui-Zhi-Jia-Shu-Fu-Tang), Keisi-ni-eppi-iti-tô (Gui-Zhi-Er-Yue-Bei-Yi-Tang), Keisi-syakuyaku-timo-tô (Gui-Zhi-Shao-Yao-Zhi-Mu-Tang), Chinese medicine, Antiinflammatory effect, Carrageenin-induced edema, Adjuvant Arthritis

Abbreviations Keisi-ka-zyutubu-tô (Gui-Zhi-Jia-Shu-Fu-Tang); 桂枝加朮附湯, Keisi-ni-eppi-iti-tô (Gui-Zhi-Er-Yue-Bei-Yi-Tang); 桂枝二越婢一湯, Keisi-syakuyaku-timo-tô (Gui-Zhi-Shao-Yao-Zhi-Mu-Tang); 桂枝芍薬知母湯

緒 言

関節リウマチは, 自己免疫疾患の1つといわれて

おり, その病因は未だ不明な点が多く, 薬物療法も確立されていない。現在用いられている治療剤には, 炎症を抑える抗炎症剤と, 炎症の原因となる免疫異常を抑制する薬剤があげられる。前者には, 副

*〒930-01 富山市杉谷2630
2630, Sugitani, Toyama, 930-01, Japan

腎皮質ホルモンと非ステロイド性消炎鎮痛剤があり、作用機序は、Prostaglandins生合成阻害に基づく炎症惹起反応の抑制で、炎症の抑制と痛みの緩柔という対照療法にすぎない。後者には、免疫抑制剤 (Cyclophosphamide, Azathiopurine など) や免疫調整剤 (金塩製剤, D-penicillamine, Levamisole など) がある。後者は、原因治療として関心を集めているが、副作用が多く、使用に制限を伴う。

一方、和漢薬は副作用の少ない事から再認識されつつあり、慢性炎症性疾患に対して、桂枝加朮附湯、桂枝二越婢一湯、桂枝芍薬知母湯、大防風湯、防己黃耆湯、烏頭湯などの方剤が用いられている。¹⁻³⁾ 和漢薬は西洋薬のような明確な病因に対して用いられることは少なく、患者の「証」にあわせて処方され、また、その作用機序についても未だ不明なため、臨牀的には経験に基づいて用いられている。⁴⁾

著者等は、これまで、慢性疾患に用いられる生薬もしくは方剤の作用機序に関する研究を進めてきた。例えば、桂枝加朮附湯などの熱水抽出物に *in vitro* で macrophage の活性化を制御する因子が存在するという知見を得ている。今回、著者等は、桂枝加朮附湯 (以下、方剤 I)、桂枝二越婢一湯加附子 (方剤 II)、桂枝芍薬知母湯 (方剤 III) の 3 方剤を選び、2 種の実験炎症モデル、(1) ラット・カラゲニン足趾浮腫、(2) ラット・アジュバント関節炎を用

い、その効果を比較検討した。

その結果、用いた 3 方剤が、いずれも (1)、(2) の実験炎症モデルに対して強い抑制効果を有することが判明したので、以下その詳細を報告する。

実験材料

動物は体重 200~300g の Sprague-Dawley 系雄性ラットを使用し、各実験 1 群 5 匹とした。方剤 I、II、III 中の構成生薬を Table I に示す。

白河附子 (新潟県産) は内田和漢薬より、桂皮 (広西省産)、芍薬 (奈良県産)、大棗 (山東省産)、甘草 (西省産)、生姜 (雲南省産)、白朮 (湖南省産)、麻黄 (大連産)、知母 (河北省産)、防風 (山陰地方産)、石膏 (山東省産) は栃本天海堂より入手し、各煎液は、方剤 1 日量に水 800ml を加え、電熱器 (600W) で 1 時間軽く煮沸し、温時濾別し、得られた煎液に水を加えて正確に 300ml に調整した。

Carrageenin (λ -Carrageenin: 逗子化学, Picnin-A, Lt. No. L-70) は、注射前日に生理食塩水中に 1% 濃度になるように懸濁し、使用時まで 4℃ に保存した。Adjuvant は、Drykilled *Mycobacterium butyricum* (Difco, Lt. No. 712382) をメノウ乳鉢中で充分研和し、流動パラフィン (和光純薬, G.

Table I Chinese medicinal prescriptions and their components (g/day)

Components* Prescription	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
Keisi-ka-zyutubu-tô (I)	4.5	4.5	3.0	1.0	4.5	5.0	—	—	—	—	1.0
Keisi-ni-eppi-iti-tô (II)	3.0	3.0	3.0	1.0	4.0	—	3.0	5.0	—	—	1.0
Keisi-syakuyaku-timo-tô (III)	4.0	3.0	2.0	1.0	—	5.0	3.0	—	4.0	4.0	1.0

- *: a ; Keisi (*Cinnamomum Loureirii* Nees)
 b ; Syakuyaku (*Paeonia albiflora* Pall.)
 c ; Kanzô (*Glycyrrhiza glabra* L.)
 d ; Syôkyô (*Zingiber officinale* Rosc.)
 e ; Taisô (*Zizyphus Jujuba* Mill.)
 f ; Byakuzyutu (*Atractylodes japonica* Koidz.)
 g ; Maô (*Ephedra sinica* Stapf)
 h ; Sekkô (*Gypsum*)
 i ; Timo (*Anemarrhena asphodeloides* Bunge)
 j ; Bôhû (*Ledebouriella seseloides*)
 k ; Sirakawabusi (*Aconitum japonica* Thunb.)

R. Lt. No. SDJ 1569) を加え、濃度0.6mg/0.05mlの懸濁状態に調整し、4℃に保存した。Indomethacin (Sigma, Lt. No. 112F-0043) は、1% Carboxymethylcellulose sodium salt溶液 (半井化学, Lt. No. M3K8086) 中に懸濁し使用した。

実験方法

1. カラゲニン足蹠浮腫⁵⁾

Carrageeninの1%生理食塩水懸濁液0.05mlをラット後肢足蹠皮内に27gauge針を用いて注射した。方剤I, II, III投与群には、各方剤煎液を2ml/匹/日で、対照群には、水を2ml/匹/日でCarrageenin注射1週間前より注射当日まで連日経口投与した。また、Indomethacin投与群には、Carrageenin注射1時間前にIndomethacin (0.6mg/匹)を経口投与した。

2. アジュバント関節炎⁶⁾

Adjuvant 0.6mgをラット左後肢足蹠皮内に注射した。方剤I, II, III投与群には、方剤煎液を2ml/日の条件でAdjuvant注射1週間前より、注射21日後まで、連日投与した。Indomethacin投与群では、Adjuvant注射1週間前より、注射前日まで2mlの水を、Adjuvant注射以後21日間Indomethacin (0.25mg/日)を経口投与した。対照群には、全期間を通じ水を2ml/匹/日で経口投与した。

3. 効果の判定法

(1)ラット後足容積の測定

測定は、藤平等⁷⁾の方法に準じた。Carrageenin浮腫では、ラット両後肢にCarrageeninを注射し、1, 3, 4, 5時間の両後肢容積の変化を測定し、その平均値から(1)式を用い浮腫率を算定した。アジュバント関節炎では、Adjuvant注射後3, 5, 7, 14, 21日のAdjuvant注射足と非注射足の容積を測定し、各足の浮腫率を算出した。

$$\text{浮腫率 (\%)} = \frac{V_t - V_o}{V_o} \times 100 \cdots (1) \text{式}$$

V_o : 浮腫惹起物質注射前の容積 (ml)

V_t : 浮腫惹起物質注射後、規定時間経過後の容積 (ml)

(2)アジュバント関節炎の視覚的評価

Adjuvant注射後にAdjuvant非注射足、前肢、尾関節、耳介などに現われる遅発性の2次の炎症性変化を視覚的に評価した。得点の規準は和気等⁸⁾の評価法に基づいて定め、Adjuvant注射後14, 21日目に

観察し、その合計得点より効果を比較した。

非注射足・尾関節・前肢・耳介各部の発赤あるいは腫脹……………1点

非注射足関節・尾関節・前肢各部の明瞭な炎症性変化……………2点

広範な炎症性変化および強直性変化……………3点

結 果

1. カラゲニン足蹠浮腫に対する各方剤の効果

Carrageenin注射後の浮腫率の変化をFig. 1に示した。注射後3時間で、方剤I, II, 4時間でI, III, 5時間でIを投与した群に、対照群に比して、明確な抑制が認められ、各時間を通じ、いずれの方剤投与群にも抑制傾向が認められた。とくに、方剤I投与群では、1, 3時間後に対照群に比して有意な抑制を示した ($P < 0.05$)。また、Indomethacin投与群は、全過程を通じて抑制傾向を示した。

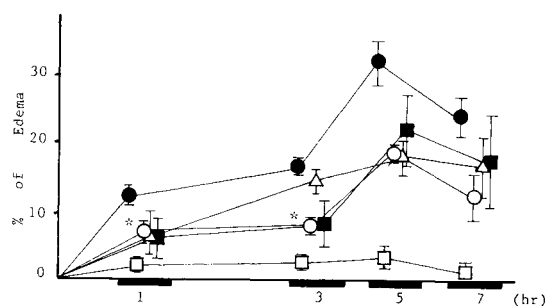


Fig. 1 Effect of prescription I, II, III on Carrageenin-induced edema.

●—● Control
■—■ Prescription II
□—□ Indomethacin
○—○ Prescription I
△—△ Prescription III

* : $P < 0.01$ ($n = 5$)

2. アジュバント関節炎に対する効果

Adjuvant注射後の注射足および非注射足の各群の浮腫率の変化をそれぞれFig. 2, Fig. 3に示す。注射足では、7日目まで、方剤投与群と対照群に差は認められなかったが、14日、21日目で、各方剤の投与群は対照群に対して明らかに抑制を示し、21日目では、方剤I, II投与群に有意な効果が認められた ($P < 0.05$)。また、非注射足に関しても、各方剤投与群が、14日目以降、抑制傾向を示し、21日目では、有意な抑制効果を示した ($P < 0.025$)。

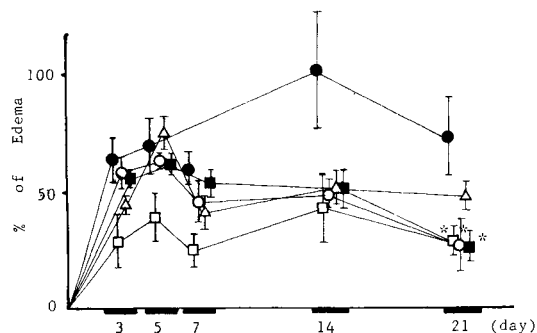


Fig. 2 Effect of prescription I, II, III on Adjuvant Arthritis. (Adjuvant treated foot)

●—● Control ○—○ Prescription I
 ■—■ Prescription II △—△ Prescription III
 □—□ Indomethacin
 * : $P < 0.05$ (n=5)

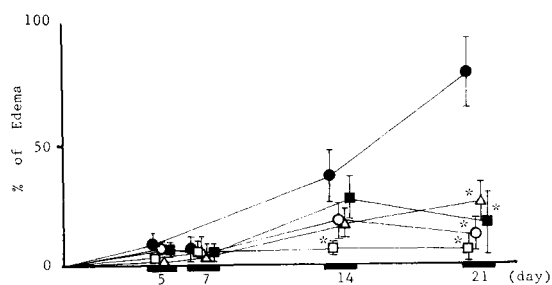


Fig. 3 Effect of prescription I, II, III on Adjuvant Arthritis. (Adjuvant untreated foot)

●—● Control ○—○ Prescription I
 ■—■ Prescription II △—△ Prescription III
 □—□ Indomethacin
 * : $P < 0.025$ (n=5)

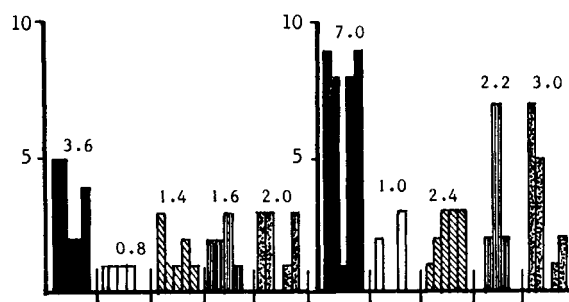


Fig. 4 Effect of prescription I, II, III on Adjuvant Arthritis. (Adjuvant untreated foot)

■ Control □ Prescription I
 ▨ Prescription II ▤ Prescription III
 ▩ Indomethacin

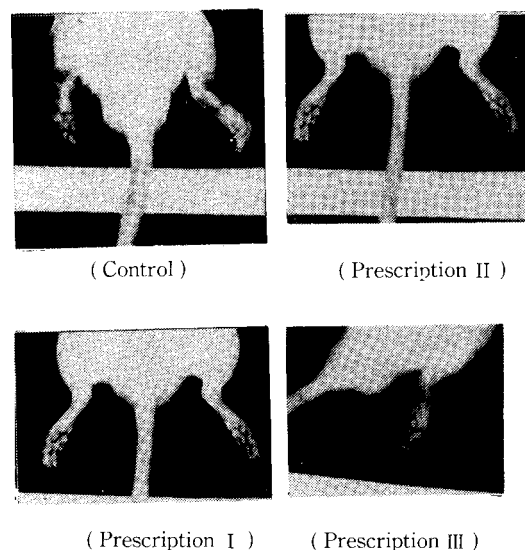


Fig. 5 Hind foot on 21 days after Adjuvant treated

次に、14日目と21日目における2次炎症の視覚的所見の評価結果をFig. 4に示す。対照群と方剤投与群では明らかな差があり、方剤投与後の炎症抑制効果は明らかである(図中の数字は各群の平均得点数である)。

また、Fig. 5に対照群および方剤投与群の21日目の例を写真表示した。対照群では、非注射足関節部位に結合組織の増殖によると思われる強直症状、尾関節の数ヶ所の結節の形成が顕著に認められたが、方剤投与群では、尾関節の結節が軽度か、消失しており、炎症が軽度であった。

考 察

Carrageeninによる炎症の進行は、2相性を示す⁵⁾。第1相は、Carrageenin注射後約1時間後に現われ、Histamine遊離にもとづく血管透過性亢進に由来する。第2相は、4~5時間後にピークに達する反応で、Bradykinin, Protease類, Prostaglandin類, Lysosome酵素類, 補体などが関与するといわれている。今回得られた結果より、方剤I, II, III

が、Indomethacinに比べて作用は弱い⁹⁾が、第1相、第2相のいずれの炎症反応に対しても抑制傾向を示したことは、これらの方剤が、前述の生体内炎症誘発物質に直接または間接的に作用している可能性を示唆するものである。

アジュバント関節炎は、発生機序に不明な点が多い⁹⁾。Person等¹⁰⁾は、アジュバント関節炎が、リンパ節細胞あるいは脾細胞により受与伝達可能で、これが免疫抑制剤で抑制されることから、発症に免疫機構が関与していると主張している。また、Waksman等¹¹⁾も、アジュバント関節炎が、細胞性あるいは遅延型の免疫反応であると主張している。先に、著者等⁴⁾は、方剤I、II、IIIが *in vitro* で正常macrophageのprocoagulant活性を増強させ、その作用物質は、方剤中の白朮、麻黄の水可溶性画分に存在するという知見を得ているが、今回得たアジュバント関節炎に対する抑制効果も、免疫担当細胞、とくに免疫調整細胞として働き得るmacrophageに対する作用が重要な役割を担っている可能性が充分に考えられる。

これまで、種々の和漢薬および和漢方剤の免疫系^{12,13,20,21)}に対する効果、急性炎症反応におけるChemical mediator¹⁴⁻¹⁹⁾に対する作用が報告されているが、今回用いた3方剤の抗炎症作用は、2種の炎症モデルに対する抑制効果より、(1)免疫系(とくにmacrophage)に対する作用、(2)Chemical mediatorに対する作用のいずれにも由来すると考えられる。

文 献

- 1) 山田光胤：漢方処方 応用の実際、南山堂、1979
- 2) 矢数道明：漢方処方解説、創元社、1980
- 3) 藤平 健：漢方処方類方鑑別便覧、リンネ株式会社、1982
- 4) 安田晶子：白朮、蒼朮および麻黄の煎液に含まれる Macrophage Procoagulant Activity増強因子について、富山医薬大修士論文、1983
- 5) 山村雄一、林 秀男：炎症学叢書(4)、炎症動物実験法、医学書院、pp48、1975
- 6) 同 上：pp104
- 7) 藤平栄一：Screening方法と問題点、応用薬理、5(2)、169-133、1984
- 8) 和気和也：Histamineのアジュバント関節炎抑制作用とその機構、アレルギー 25(9)、649-657、1976
- 9) 篠田泰登、児島英介：KH-125に関する研究、アレルギー 25(5)、437-442、1975
- 10) Person, C.M.: Development of arthritis, periarthritis in rats given adjuvant. *Pro. Soc. Exp. Biol. Med* 91, 95-101, 1956
- 11) Waksman, B.H., Wennessten, C.: Positive transfer of adjuvant arthritis in rats with living lymphoid cells of sensitized donors. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 23, 129-139, 1963
- 12) 岩間祐子、渡辺智子、荻原幸夫：漢方薬の解析、第104年会日本薬学会講演要旨集、pp134、1984
- 13) 長尾孝治、久保道徳：葛根湯の免疫活性化作用、同 上、pp135、1984
- 14) Newbould, B.B.: Chemotherapy of arthritis induced in rats by mycobacterial adjuvant. *Br. J. Pharmacol.* 21, 127-136, 1963
- 15) Ward, J.R., Cloud, R.S.: Comparative effect of anti-rheumatic drugs on adjuvant induced polyarthritis in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 21, 127-136, 1963
- 16) Winter, C.A., Nuss, G.W.: Treatment of adjuvant arthritis in rats with antiinflammatory drugs. *Arthritis Rheum.* 9, 394-404, 1966
- 17) Rosensole, M.E.: Immunopharmacologic effects of cycloleucine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 180, 501-513, 1972
- 18) 鹿野美弘、齊藤謙一、木島正夫：生薬製剤の薬物学的特性、生薬学雑誌 37(1)、10-16、1983
- 19) 三川 潮：漢薬中のプロスタグランディン合成阻害物質、医学のあゆみ、126(11)、867-873、1983
- 20) 丁 宗鉄、大塚恭男：漢方薬と抗炎症、漢方医学、6、12-20、1982
- 21) 丁 宗鉄、長 紹元、高橋 誠：生薬によるアジュバント関節炎の抑制、生薬学雑誌 36(1)、78-81、1982