

小柴胡湯の Maus 肥満細胞脱顆粒に対する作用の形態学的研究

戸田 静男*, 木村 通郎, 大西 基代, 中嶋 恭三

関西鍼灸短期大学

Morphological studies on the inhibitory effects of extracts
from Xiao-Chai-Hu-Tang (Syô-saiko-tô)
on degranulation in mouse mast cells

Shizuo TODA*, Michio KIMURA, Motoyo OHNISHI and Kyozeu NAKASHIMA

Kansai College of Acupuncture Medicine

(Received May 27, 1986. Accepted July 30, 1986.)

Abstract

Studies on the effect of oriental drugs against allergy were performed by investigating the inhibitory effect of Xiao-Chai-Hu-Tang (Syô-saiko-tô) in mouse peritoneal mast cells on degranulation induced by compound 48/80, an artificial promotor of degranulation.

Xiao-Chai-Hu-Tang inhibited the degranulation of mouse mast cells in concentration-dependent manner. The degree of inhibition, however, was slightly lower as compared to that of disodium cromoglycate, an anti-allergy agent.

Key words degranulation, disodium cromoglycate, mast cell, Xiao-Chai-Hu-Tang (Syô-saiko-tô)

Abbreviations DSCG, disodium cromoglycate; N-5', N(3', 4'-dimethoxycinnamoyl)-anthranilic acid; Xiao-Chai-Hu-Tang (Syô-saiko-tô), 小柴胡湯

緒 言

近年、漢方方剤（小青竜湯¹⁾、柴朴湯²⁾など）、生薬（牛膝、細辛、桂皮、牛胆、辛夷など³⁾）および生薬成分〔南天からの N(3', 4'-dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid (N-5')⁴⁾、黄芩からの baicalin, baicalein など⁵⁾〕に抗アレルギー作用のあることが、実験的に認められている。また、臨床的にも小青竜湯^{6,7)}や柴朴湯⁸⁾のような漢方方剤や N-5' が、気管支喘息に有効であることも確認されている。

著者らは、代表的な漢方方剤である小柴胡湯のアレルギーに対する作用を検討すべく、マウス腹腔内肥満細胞の脱顆粒に対するこの作用を形態学的に

観察し検討したので報告する。

材料と方法

(1) 動物：雄性マウス (ddY/25-30g, 静岡実験動物組合より購入) を用いた。

(2) 小柴胡湯エキスの調整：(局) 柴胡 7.0 g, (局) 半夏 5.0 g, (局) 黄芩 3.0 g, (局) 大棗 3.0 g, (局) 人參 3.0 g, (局) 甘草 2.0 g, (局) 生姜 1.0 g の水製エキスを噴霧乾燥によって作製した乾燥エキス粉末を用いた。これは、株式会社津村順天堂より供与された。

小柴胡湯エキス溶液は、Tyrode 液で上記エキスを 50, 30, 10, 1 mg/ml に調整した。既知の肥満細胞脱顆粒抑制剤としては、disodium cromo-

*〒590-04 大阪府泉南郡熊取町小垣内 990
990, Ogaito, Kumatori, Senri-n, Osaka 590-04,
Japan

glycate (DSCG) (藤沢ファイソonz社製) を Tyrode 液で 30, 10, 1 mg/ml に調整した。肥満細胞脱顆粒促進剤としては compound 48/80 (Sigma 社製) を Tyrode 液で調整した。この濃度は、肥満細胞を 100 % 脱顆粒させる 50 μ g/ml とした。

(3) 肥満細胞の採取と調整：平井らの方法⁹⁾を改変して、マウス腹腔より肥満細胞を採取した。すなわち、マウスをエーテル麻酔下瀉血直後腹腔内に Tyrode 液 0.5 ml を投与し、腹部を約 3 分間軽くマッサージした。その後、腹腔より細胞浮遊液を採取し、150 $\times$ g, 10分間遠心し、上澄を除去し、沈殿した細胞を集めた。これを 0.5 ml の生理食塩水に懸濁させ、1 ml の比重 1.07 の牛血清アルブミンの上に重層し、110 $\times$ g, 10分間遠心し肥満細胞を沈殿させた。この沈殿物を 1 ml の生理食塩水で 3 回洗い、最終的に 0.1 % 牛血清アルブミンを含む Tyrode 液で 10⁶/ml になるように調整した。

(4) 試験法：坂本らの方法¹⁰⁾を改変して行った。すなわち、肥満細胞浮遊液もしくは DSCG 溶液 1.6 ml に各濃度の小柴胡湯エキス溶液を添加し、37 $^{\circ}$ C, 10分間 incubate した。その直後、compound 48/80 50 μ g/ml をこれに添加し、37 $^{\circ}$ C, 10分間 incubate した。対照群としては、肥満細胞浮遊液 1.6 ml に compound 48/80 50 μ g/ml を添加し、37 $^{\circ}$ C, 10分間 incubate のみした。これらを、形態学的観察の試料とした。

(5) 光学顕微鏡による検討：試料の塗抹標本をメ

タノールにて固定し、トルイジンブルー染色を行った。

(6) 電子顕微鏡による検討：試料を 1 % glutaraldehyde で 4 $^{\circ}$ C, 1 時間固定し、200 $\times$ g, 10分間遠心した。遠心後上清を除去し、沈殿物を cacodylate buffer で洗浄し、2 % osmium tetroxide で 1 時間固定し、アルコールで脱水し、epon 包埋し電子顕微鏡用試料とした。この超薄切片を作製し、酢酸ウラニウム、クエン酸鉛にて二重染色し、JEM-1200EX にて観察した。

(7) 肥満細胞脱顆粒の形態学的分類：光学顕微鏡で各群とも、約100個の肥満細胞を観察した。肥満細胞顆粒の形態学的分類は、坂本らの方法¹⁰⁾により以下のように行った。

グループ I：正常像。

グループ II：顆粒周縁部の空隙の形成、顆粒の放出などが認められるもの。

グループ III：空胞の形成が認められ、顆粒の放出が著明なもの。

グループ IV：細胞膜が破壊されているもの。

各群とも、各グループの肥満細胞数の比率を算出し比較した。

結 果

肥満細胞に compound 48/80 50 μ g/ml を作用させると脱顆粒が認められ、その程度は坂本ら¹⁰⁾の

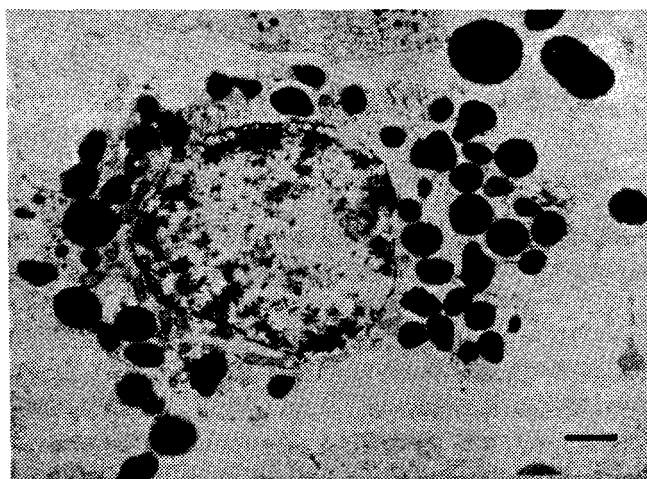


Fig. 1 Electronmicrograph of mast cell treated with 50 μ g/ml compound 48/80.
(Bar : 2 μ m, $\times$ 6400)

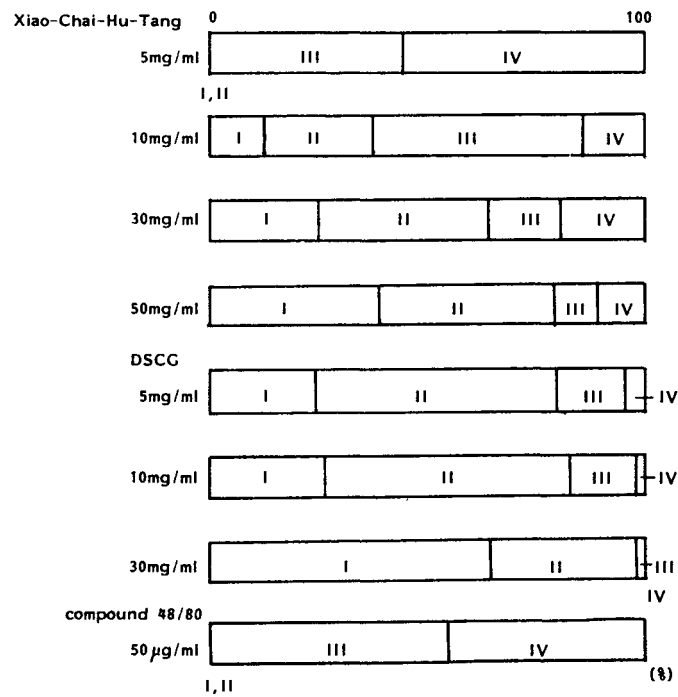


Fig. 2 Inhibitory effect of Xiao-Chai-Hu-Tang on mast cell degranulation caused by compound 48/80.

group I : normal, degranulation (-)
 group II : degranulation (+), vacuole ($\pm$)
 group III : degranulation (++), vacuole (+)
 group IV : degranulation (+++), destruction of mast cell (+)
 various experimental group : about 100 mast cells

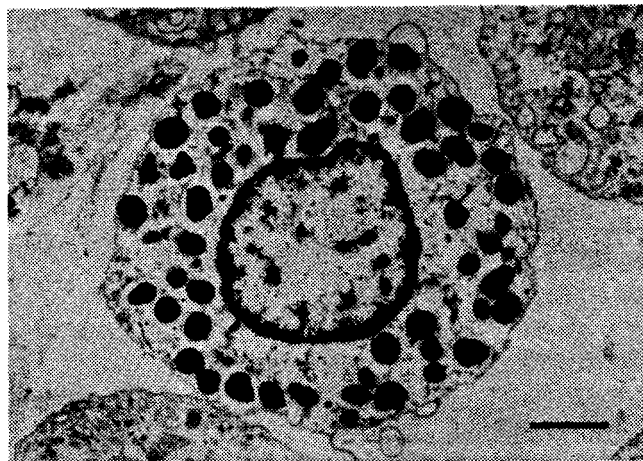


Fig. 3 Electronmicrograph of mast cell treated with 10 mg/ml Xiao-Chai-Hu-Tang and 50 μ g/ml compound 48/80.
 (Bar : 1 μ m, $\times$ 9400)

分類による group III あるいは IV に相当するものであった。その典型的な電顕像を示したのが Fig. 1 である。

光学顕微鏡による観察では、Fig. 2 のように小柴胡湯は濃度依存的に compound 48/80 の脱顆粒を抑制していた。その抑制効果は、DSCG のそれよりも弱かったが、低濃度 (10 mg/ml で group I : 13 %, group II : 25 %, group III : 48 %, group IV : 14 %) でも抑制していた。

また、電子顕微鏡による観察においても、Fig. 3 に示すように小柴胡湯 10 mg/ml 添加群では、compound 48/80 のこれらの脱顆粒効果が全く認められなかった。

考 察

今回の実験において、小柴胡湯はマウス腹腔内肥満細胞の脱顆粒の抑制することが明らかになった。

現在、DSCG や *N*-5' が肥満細胞からの histamine のような chemical mediator の遊離を抑制する薬剤 (つまり抗アレルギー剤の一種) として臨床的に使われている。一方、漢方方剤においても柴朴湯や小青竜湯は肥満細胞からの histamine 遊離を抑制することが認められている。⁶⁻⁸⁾ これらの漢方方剤の研究は、薬理学的および生化学的に検討されたものである。

著者らの研究は、小柴胡湯の肥満細胞脱顆粒抑制作用を形態学的に確認したものである。今回の結果は、小柴胡湯が抗アレルギー作用を有することを示唆している。今後、小柴胡湯の肥満細胞脱顆粒抑制作用の作用機序および抗アレルギー作用の有無を詳細に検討していくつもりである。

結 論

小柴胡湯がマウス腹腔肥満細胞の脱顆粒を抑制することが、形態学的に認められた。この抑制効果は、既存の肥満細胞脱顆粒抑制剤である DSCG より弱かったが、小柴胡湯は低濃度で肥満細胞脱顆粒を抑制した。このことは、小柴胡湯が抗アレルギー作用を有することを示唆している。

謝 辞

本研究に終始御指導と御助言を頂きました本学川俣順一学長、御援助を頂きました株式会社津村順天堂に深謝致します。

文 献

- 1) 竹内良夫, 西村葉子, 吉河達祐, 栗山純一, 木村義民, 難賀寿和: 和漢薬「小青竜湯」の抗アレルギー作用 特に関与抗アレルギー剤との比較, アレルギー **34**(6), 387-393, 1985
- 2) 西依 健, 土屋博司, 稲垣直樹, 永井博式, 江田昭英: 漢方方剤, 柴朴湯の I 型アレルギー反応, 特に実験アトピー性喘息に及ぼす影響, 日薬理誌 **85**, 7-16, 1985
- 3) 江田昭英, 勝田栄二, 渡辺茂勝, 水野瑞夫: 生薬の抗アレルギー作用についての吟味, 日薬理誌 **66**, 366-378, 1970
- 4) 中沢政之, 吉村哲郎, 内藤 博, 東 洋: 新しいアトピー性疾患治療剤, *N*-(3,4'-dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid の薬理学的性質(5) — 分離ラット腹腔からの Histamine 遊離におよぼす影響 —, 日薬理誌 **74**, 488-490, 1978
- 5) 江田昭英, 永井博式, 和田 浩: Baicalin および Baicalein の薬理作用 (第 1 報) — 能動的アナフィラキシー反応に及ぼす影響, 日薬理誌 **66**, 194-213, 1970
- 6) 栗山一夫, 馬場廣太郎, 奥沢裕二, 古内一郎: 和漢薬「小青竜湯」の鼻アレルギーに対する効果 第 1 報 「小青竜湯」投与による c, AMP, ヒスタミンおよび c, AMP の変動, アレルギー **29**, 227-235, 1980
- 7) 梅里義博, 飯倉洋治, 永倉俊和: 漢方「小青竜湯」の気管支喘息児とモルモット摘出気管平滑筋に対する効果, アレルギー **31**, 297-303, 1982
- 8) 塚本祐壮, 上境 勉, 青木久夫, 親泊英善, 岩本貴代美, 西澤好二: 小児気管支喘息と柴朴湯一病型分類にみた治療効果の計量的評価法 —, *Proc. Symp. WAKAN-YAKU* **12**, 65-68, 1979
- 9) 平井裕子, 高瀬英樹, 古林浩子, 山本道子, 藤岡尚美, 神田博史, 山崎和男, 安原 義, 中嶋輝躬: 肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用を指標とした抗炎症生薬スクリーニング, 生薬誌 **37**, 374-380, 1983
- 10) 坂本守正, 角田幸子, 幡井 勉: オウゴン (黄芩) 成分 Baicalein の肥満細胞脱顆粒抑制効果, *Proc. Symp. WAKAN-YAKU* **16**, 65-68, 1983