

免疫調節作用を有する薬物の開発研究 I. 伝統医学においてアレルギー疾患に用いられる生薬のリンパ球に対する幼若化活性について

難波 恒雄,*^{a)} 沢 和子^{a)} 橋本 泰徳^{a)} 尾崎由紀子^{a)}
服部 征雄^{a)} 成瀬 優知^{b)} 鏡森 定信^{b)}

^{a)}富山医科薬科大学和漢薬研究所資源開発部門, ^{b)}富山医科薬科大学医学部保健医学教室

Studies on development of immunomodulating drugs I. Lymphocyte-mitogenic activity of crude drugs used as anti-allergic drugs in traditional medicine

Tsuneo NAMBA,*^{a)} Kazuko SAWA^{a)} Yasunori HASHIMOTO^{a)} Yukiko OZAKI^{a)} Masao HATTORI^{a)}
Yuchi NARUSE^{b)} and Sadanobu KAGAMIMORI^{b)}

^{a)}Department for Development of Natural Drug Resources, Research Institute for Wakan-Yaku, Toyama Medical and Pharmaceutical University

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

(Received November 15, 1988. Accepted February 14, 1989.)

Abstract

In the course of our studies on immunomodulating agents, we investigated the mitogenic activity of 45 different crude drugs, which have been used for the treatment of allergic disorders in traditional medicine. The following findings were obtained. 1) Extracts of the whole plant of *Sanguisorba officinalis*, the root of *Paeonia lactiflora*, the root of *Glycyrrhiza glabra* and the whole plant of *Coleus aromaticus* showed mitogenic activity on human peripheral blood lymphocytes in terms of high stimulation indices (S.I.) which represent the ratios of ³H-thymidine incorporation into the cells in the presence of a test sample to that in the absence of it. On the other hand, extracts of the radix of *Polygala tenuifolia*, the bark of *Magnolia obovata*, the aerial part of *Ephedra* sp. and the leaves of *Nandina domestica* showed less or no mitogenic activity with low S.I. 2) The extracts of *P. lactiflora*, *C. aromaticus* and *M. obovata*, which showed high S.I. on the human lymphocytes, also showed high S.I. on mouse spleen cells in a similar manner. 3) The *P. lactiflora* extract significantly enhanced the S.I. induced by phorbol myristate acetate (PMA) on mouse spleen cells, suggesting that helper T-cells participate in the mitogenic activity of the *P. lactiflora* extract. 4) Through fractionation of the *P. lactiflora* extract, mitogenic substances on both human and mouse peripheral blood lymphocytes seemed to be present in the water-soluble and *n*-BuOH fractions.

Key words lymphocyte mitogenic activity, Peony roots, traditional Chinese medicine.

Abbreviations PMA, phorbol myristate acetate; PHA, phytohemagglutinin; S.I., stimulation index.

緒 言

漢方薬などの伝統医学で用いられる薬物は、その地域や社会独特の診断基準に基づき処方され、治療

に用いられてきた。しかし、その裏付けは長い歴史による経験的な知識であり、科学的に作用機序が明らかになっているものは少ない。近年、免疫系の異常に起因する、数多くの自己免疫疾患が注目されるとともに、免疫系に作用する薬物が漢方薬、及びそ

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

他の民族薬物に、求められている。¹⁻⁵⁾そこで、著者らは漢方薬を中心に、民間的に自己免疫疾患の治療に用いられている薬物も含め、これらの免疫機能に対する影響をリンパ球の幼若化能に着目し、検討を行った。

材料と方法

(1) 生薬：各種和漢薬は枳本天海堂（大阪）より購入し、それぞれの基源植物は著者らの1人、難波により同定された。*Coleus aromaticus* BENTH. は W. Wilbert Co. (Colombo, Sri Lanka) から購入した。また、産地別赤芍は、鶴居薬品工業（富山）より入手した。

(2) 生薬エキスの調製：生薬各5gを粉末とし、水100mlで3時間加熱抽出した。これを熱時濾過、放冷後、12,000×gで10分間遠心分離し、その上澄を凍結乾燥して水エキスとした。メタノール抽出エキスも同様に調製した。各エキスは実験に際して、PBS緩衝液に溶解後、millipore filter (pore size: 0.45 μm) を用いて、濾過滅菌した。

(3) リンパ球の調製方法

a) ヒト末梢血リンパ球の調製：健康人より採取したヘパリン加末梢血から、Ficoll Conray 液（比重1.077）を用いる重層遠心法によってリンパ球に富む細胞を分取した。これらの細胞を、PBS緩衝液にて3回洗浄した後、5% fetal calf serum (FCS) を含む RPMI1640 培地（ニッスイ）に懸濁し、 1×10^6 cell/ml の細胞浮遊液として、実験に供した。^{6,7)}

b) マウス脾細胞の調製：ddY マウス（雄性、8-12週齢）から、脾臓を摘出し、脾細胞を遊離させた後 MEM 培地（ニッスイ）に懸濁し、トリス赤血球除去液⁷⁾にて赤血球を除去した。ついで細胞浮遊液をプラスチックシャーレ上で1時間インキュベーションし、付着性細胞を除去した。このように

調製した脾細胞に、5% FCS を含む RPMI1640 培養液に加え、細胞濃度を 1×10^6 cell/ml に調整して実験に用いた。^{7,8)}

(4) リンパ球幼若化活性の測定：ヒト末梢血リンパ球、又はマウス脾臓細胞をマイクロUプレート（0.2 ml/well）に分注し、培養開始時に生薬エキスと共にマイトージェンを加えるか、またはマイトージェン非存在下で、37℃、5% CO₂ 培養器内で3日間培養した。培養終了1日前に 0.2 μCi/well の ³H-thymidine (New England Nuclear Co.) を各wellに添加し、培養終了後にセルハーベスター（ラボサイエンス）を用いて細胞を回収し、0.6% *t*-butyl PBD トルエン溶媒を加え、液体シンチレーションカウンターで放射活性を測定した。⁷⁾

実験はすべて1回につき triplicate で3回以上繰り返して行い、1回の培養には同腹のマウスを複数用いた。³H-thymidine の uptake は、sample 非添加群の dpm を分母に、sample 添加群の dpm を分子にとり、stimulation index (S.I.) で表現した。

(5) マイトージェン：使用したマイトージェンを、Table I に示す。各マイトージェンのリンパ球刺激へのサブセット特異性を利用して、幼若化反応がリンパ球のどのサブセットで反応している可能性が高いかを検討した。⁹⁻¹²⁾至適濃度は、Lot によって多少異なるため、その範囲を示した。また、phytohemagglutinin - p (PHA), lipopolysaccharide from *E. coli* (LPS) は Difco 社、pokeweed mitogen (PWM) は Gibco 社、phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) は Sigma 社、concanavalin A (Con A) は Pharmacia Fine Chemicals 社製のものを使用した。

(6) 赤芍メタノールエキスの分画：赤芍メタノールエキス (40.0 g) を水1lに懸濁させ、順次エーテル (1l), EtOAc (1l), *n*-BuOH (1l) で3回ずつ抽出した。それぞれの溶媒を留去し、エーテル可溶部 (1.78 g), EtOAc 可溶部 (2.71 g), *n*-BuOH 可

Table I Concentrations of mitogens used in this experiment.

Mitogens	Final concentration	Target of lymphocytes subpopulation
Phytohemagglutinin (PHA)	10-50 μg/ml	T cell
Lipopolysaccharide (LPS)	0.4 μg/ml	B cell (mouse)
<i>Staphylococcus aureus</i> cowan I (SpAC)	0.01 %	B cell
Concanavalin A (Con A)	5 μg/ml	Ts cell
Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)	10 μg/ml	Th cell
Pokeweed mitogen (PWM)	625 μg/ml	T, B cell

Ts: suppressor T cell, Th: helper T cell.

溶部 (12.0 g), 水可溶部 (20.5 g) を得た (Fig. 1)。

(7) 赤芍成分: Paeoniflorin, benzoyl paeoniflorin は, Kaneda ら¹³⁾ の方法により単離した。Paeonol, benzoic acid は, 和光純薬 (京都) より購入した。Paeonimetabolin I は, Hattori ら¹⁴⁾ の方法により得た。ガロタンニン類は, 山岸喬, 西沢信, 両博士 (北海道立衛生研究所) より恵与された。

(8) 統計的検定: リンパ球幼若化活性は, マイトジェンの有無, 生薬濃度, 実験回数等を考慮し, 分散分析法¹⁵⁾を用いて検討した。なお, 各要因

において, 5%水準以上で有意なものは, ダンカン法¹⁵⁾を用い, 各水準間の比較も行った。

結 果

1. ヒト末梢血リンパ球に及ぼす生薬エキスの影響

ヒト末梢血リンパ球浮遊液に, それぞれ 1, 10, 50, 100, 200 $\mu\text{g/ml}$ の生薬エキスを培養開始時に加えた場合の S.I. 値を, Table II に示す。地榆, 赤芍, 甘草, 及び *C. aromaticus* のエキスの添加によって S.I. 値の上昇が認められ, また遠志, 和厚朴, 麻黄, 南天葉のエキ스가加えられた場合では逆に S.I. 値の低下が認められた。

2. マウス脾細胞に及ぼす生薬エキスの影響

Table II で, 高い S.I. 値を示した赤芍, *C. aromaticus* エキス及び, 低い S.I. 値を示した和厚朴, 麻黄エキスについて, 更にマウス脾細胞を用いて検討した。その結果マウスリンパ球でも, ヒトリンパ球と同様に, 赤芍, *C. aromaticus* に有意な S.I. 値の上昇, 和厚朴に有意な S.I. 値の低下が認められた。麻黄については, 有意ではないが, やはり S.I. 値の低下傾向を示した (Fig. 2)。なお, S.I. 値の低下を示した場合にはリンパ球の viability を, control の dpm 値から推定し, S.I. 値の低下が viability の低下によるものではないことを確認した。また, 漢方において繁用されている赤芍エキスについて, 添加濃度の範囲を広げて検討したところ,

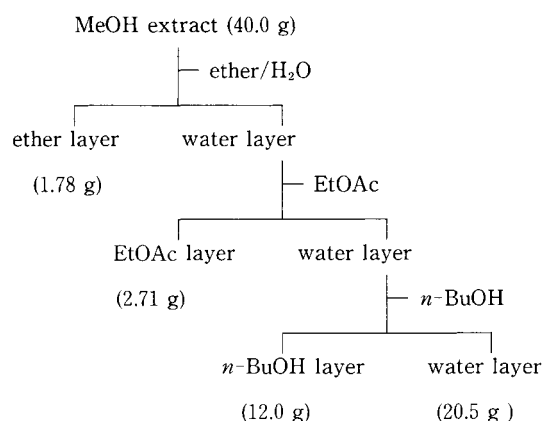


Fig. 1 Fractionation of the Sekishaku (*Paeoniae rubrae Radix*) extract.

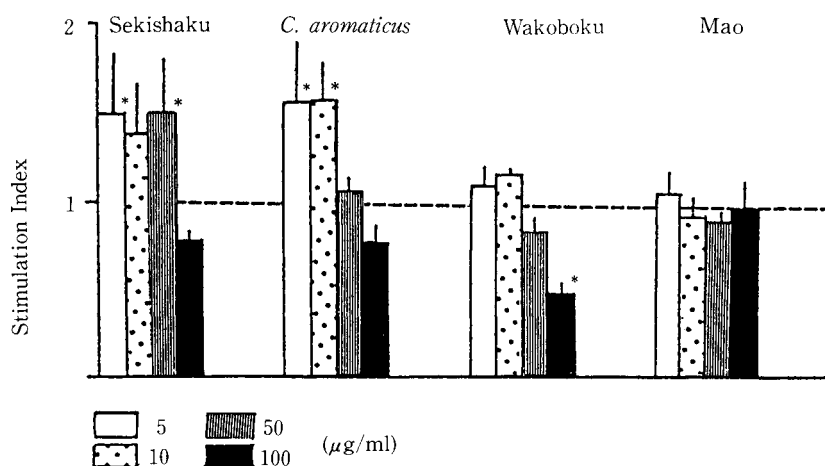


Fig. 2 Stimulation index of crude drugs on mouse spleen cells.

*Significantly different from the control, $p < 0.05$ (Analysis of Variance, Duncan method).

Table II Stimulation index of crude drug extracts on human peripheral blood lymphocytes.

Drugs	Botanical sources	Stimulation index (S.I.)	
		max	min
Alpiniae officinarum Rhizoma (良姜)	<i>Alpinia officinarum</i> HANCE	0.89 (1)	0.44 (100)
Anemarrhenae Rhizoma (知母)	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> BUNGE.	1.11 (10)	0.72 (100)
Angelicae Radix (当帰)	<i>Angelica acutiloba</i> KITAGAWA var. <i>sugiyanae</i> HIKINO	1.45 (10)	0.53 (100)
Artemisiae Foliolum (艾葉)	<i>Artemisia argyi</i> LEVL. et VANT.	0.86 (1)	0.58 (100)
Asiasari Radix (細辛)	<i>Asiasarum heterotropoides</i> F. MAEKAWA var. <i>seoulense</i> F. MAEKAWA	1.03 (1)	0.72 (10)
Atractylodis lanceae Rhizoma (蒼朮)	<i>Atractylodes lancea</i> DC.	1.06 (100)	0.86 (1)
Atractylodis Rhizoma (白朮)	<i>Atractylodes japonica</i> KOIDZUMI	1.04 (100)	0.92 (1)
Aucklandia Radix (木香)	<i>Aucklandia lappa</i> DCNE.	1.20 (100)	0.74 (1)
Cimicifugae Rhizoma (升麻)	<i>Cimicifuga</i> sp.	0.93 (10)	0.64 (100)
Cinnamomi Cortex (肉桂)	<i>Cinnamomum cassia</i> BLUME.	1.25 (10)	0.89 (1)
Clematidis Radix (威靈仙)	<i>Clematis ternstroflora</i> DC. var. <i>koreana</i> TAMURA	1.00 (10)	0.57 (50)
Colei Herba	<i>Coleus aromaticus</i> BENTH.	5.15 (200)	0.40 (100)
Cyperi Rhizoma (香附子)	<i>Cyperus rotundus</i> L.	1.00 (1)	0.79 (100)
Dictamni Radicis Cortex (白鮮皮)	<i>Dictamnus dasycarpus</i> TURCZ.	0.77 (10)	0.53 (50)
Ephedrae Herba (麻黄)	<i>Ephedra</i> sp.	1.51 (1)	0.25 (100)
Euphorbiae Radix (甘遂)	<i>Euphorbia kansui</i> LIU	0.86 (10)	0.44 (100)
Evodiae Fructus (吳茱萸)	<i>Evodia rutecarpa</i> (JUSS.) BENTH.	0.71 (100)	0.57 (10)
Fritillariae Bulbus (貝母)	<i>Fritillaria thunbergii</i> MIQ.	1.50 (10)	0.65 (100)
Gentianae macrophyllae Radix (秦艽)	<i>Gentiana macrophylla</i> PALL.	0.93 (1)	0.59 (100)
Gentianae scabrae Radix (莨胆)	<i>Gentiana scabra</i> BUNGE	1.13 (1)	0.55 (50)
Glycyrrhizae Radix (西北甘草)	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. var. <i>glandulifera</i> REG. et HERD.	2.20 (10)	0.42 (100)
Houttuyniae Herba (十葉)	<i>Houttuynia cordata</i> THUNB.	0.89 (1)	0.59 (100)
Loniceræ Flos (金银花)	<i>Lonicera japonica</i> THUNB.	1.00 (1)	0.76 (100)
Lycii Fructus (枸杞)	<i>Lycium chinense</i> MILL.	1.00 (50)	0.75 (10)
Magnoliae obovatae Cortex (和厚朴)	<i>Magnolia obovata</i> THUNB.	1.56 (10)	0.39 (50)
Magnoliae officinalis Cortex (唐厚朴)	<i>Magnolia officinalis</i> REHD. et WILS.	1.62 (1)	0.45 (100)
Moutan Radicis Cortex (牡丹皮)	<i>Paeonia moutan</i> SIMS.	1.06 (10)	0.92 (100)
Mume Fructus (烏梅)	<i>Prunus mume</i> SIMS. et ZUCC.	0.93 (1)	0.69 (50)
Nandinae Folium (南天葉)	<i>Nandina domestica</i> THUNB.	1.03 (1)	0.22 (100)
Ophiopogonis Tuber (麦門冬)	<i>Ophiopogon chekiangensis</i> KIMURA et MIGO	1.21 (100)	1.06 (10)
Paeoniae albae Radix (白芍)	<i>Paeonia lactiflora</i> PALL.	1.30 (200)	0.65 (100)
Paeoniae rubrae Radix (赤芍)	<i>Paeonia lactiflora</i> PALL.	6.15 (200)	1.75 (50)
Panacis japonici Rhizoma (竹節人參)	<i>Panax japonicum</i> C.A. MEYER	0.93 (100)	0.75 (1)
Persicae Semen (桃仁)	<i>Prunus persica</i> (L.) BATSCH.	1.35 (1)	0.50 (100)
Polygalae Radix (連志)	<i>Polygala tenuifolia</i> WILD.	1.00 (10)	0.21 (100)
Portia (茯苓)	<i>Poria cocos</i> (FR.) WOLFF	0.88 (100)	0.44 (10)
Prunellae Spica (薔姑草)	<i>Prunella vulgaris</i> L. subsp. <i>asiatica</i> HARA	1.40 (200)	1.04 (1)
Puerariae Radix (葛根)	<i>Pueraria lobata</i> (WILLD.) OHWI	1.53 (200)	0.91 (1)
Rehmanniae Radix (地黃)	<i>Rehmannia glutinosa</i> (GAERTN.) LIBOSCH. var. <i>hueichingensis</i> CHAO et SCHIH	1.02 (100)	0.71 (10)
Sanguisorbae Radix (地榆)	<i>Sanguisorba officinalis</i> L.	2.45 (200)	0.98 (1)
Scutellariae Radix (黃芩)	<i>Scutellaria baicalensis</i> GEORGI	0.80 (10)	0.45 (100)
Sinomenii Caulis et Rhizoma (防己)	<i>Sinomenium acutum</i> REHD. et WILS.	0.84 (1)	0.41 (100)
Sophorae subprostratae Radix (山豆根)	<i>Sophora subprostrata</i> CHUN et CHEN	0.92 (100)	0.78 (1)
Zanthoxyli Fructus (花椒)	<i>Zanthoxylum</i> sp.	0.93 (10)	0.74 (100)
Lumbricus (地龍)	<i>Allolobophora</i> sp.	0.91 (10)	0.43 (1)

Concentrations of the extract ($\mu\text{g/ml}$) are indicated in parentheses.Botampi, Bakumonto and Sekishaku were extracted with MeOH and others with H_2O .

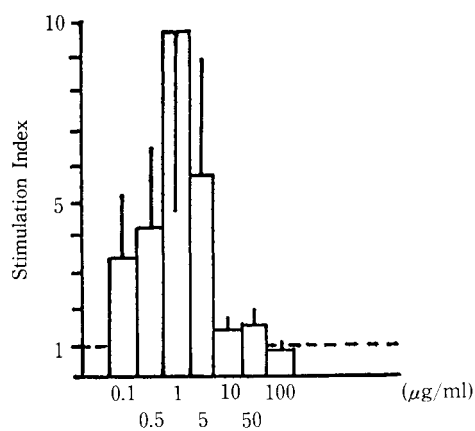


Fig. 3 Stimulation index of the MeOH extract of Sekishaku on mouse spleen cells.

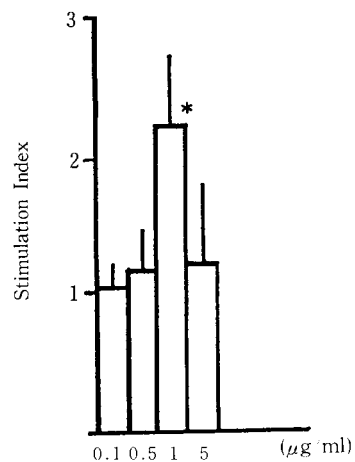


Fig. 4 Stimulation index of the MeOH extract of Sekishaku in the presence of mitogen (PMA).
S.I. = (PMA + Sekishaku)/PMA, * $p < 0.05$.

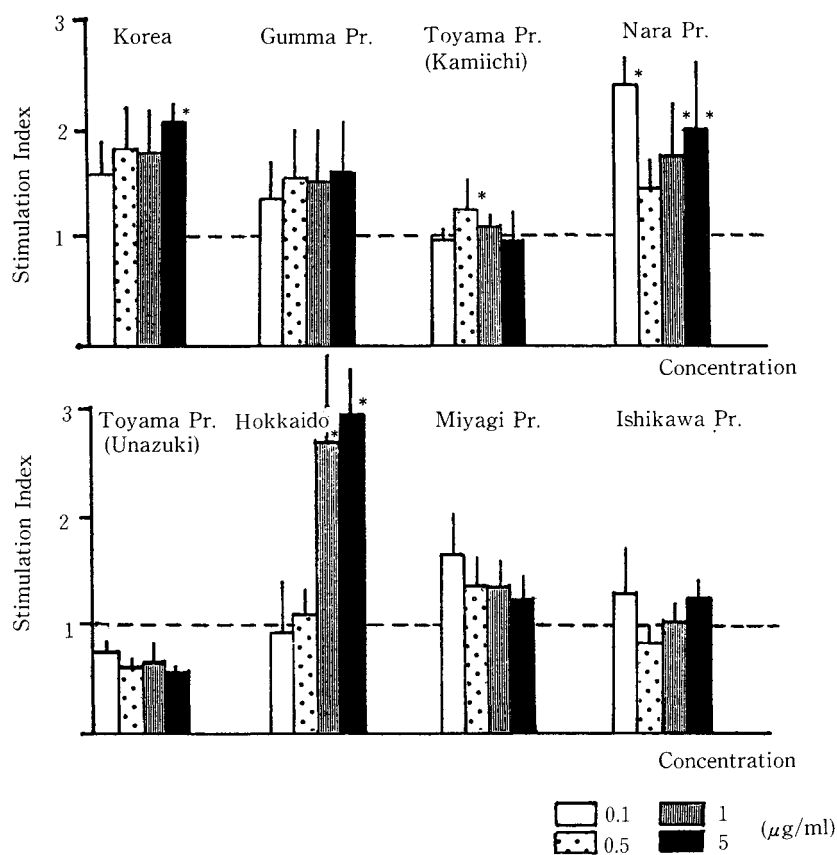


Fig. 5 Variation of stimulation index of the MeOH extract of Sekishaku due to local habitats in the presence of mitogen (PMA).

Pr. = Prefecture, () : name of city, * $p < 0.05$.

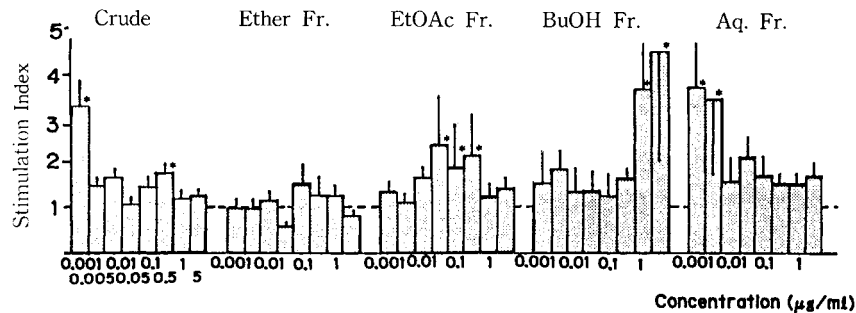


Fig. 6 Stimulation index of the MeOH extract of Sekishaku fractions. * $p < 0.05$.

1 µg/mlにおいて、最も強い作用を示した (Fig. 3)。

3. マイトーゲン併用時のマウス脾細胞に及ぼす生薬エキスの影響

生薬エキスのみの添加で、有意な S.I. 値の上昇が認められた赤芍について、そのエキスを5種類のマイトーゲンと共にリンパ球に加えて幼若化活性を検討した。その結果 PMA (最終濃度 10 µg/ml) を培養開始時に 1 µg/ml の濃度の赤芍エキスと共に添加した場合にのみ S.I. 値の上昇が認められた (Fig. 4)。しかし、その他の4種類のマイトーゲンについては、S.I. 値の変化は認められなかった。また、PMA (最終濃度 10 µg/ml) のみを細胞に添加した場合の S.I. ± S.E. は 4.73 ± 2.37 であった。

さらに産地の異なる、北朝鮮産、群馬県産、富山県産、奈良県産、北海道産、宮城県産、石川県産の赤芍エキスについて PMA 併用時の幼若化能を検討したところ、北海道産の赤芍が最も強い有意な S.I. 値の上昇を示した (Fig. 5)。

4. マウス脾細胞の幼若化反応に及ぼす赤芍の各分画の影響

北海道産赤芍メタノールエキスを、Fig. 1 に示すように、4つのフラクションに分画し、それぞれについて幼若化反応を検討した。比較的強い活性が水可溶部と *n*-BuOH 可溶部に認められたが、前者は 0.001 µg/ml–0.05 µg/ml の低濃度で強い幼若化活性を示し、後者は 1 µg/ml–5 µg/ml の高濃度でのみ顕著な作用を示した (Fig. 6)。

6. マウス脾細胞の幼若化反応に及ぼす赤芍成分の影響

赤芍成分の内、paeoniflorin, benzoyl paeoniflorin, paeonol, benzoic acid の4種と、paeoniflorin のヒト腸内細菌代謝物、paeonimetabolin I について幼若化活性を検討したところ、ともに顕著な作用

は認められなかった。その他、ガロタンニン類についても、同様の検討を行ったが、これらにも顕著な作用は認められなかった。

考 察

免疫応答の様式は抗体産生を伴う液性免疫とリンパ球が応答する細胞性免疫とに大別される。前者は抗体産生が指標となるが、後者は抗原やマイトーゲン刺激に対するリンパ球幼若化反応が指標となる。¹⁶⁾リンパ球が、抗原もしくはマイトーゲンなどで刺激されると、核酸合成や蛋白合成が活発となり、その形態も変化する。この状態は幼若化とよばれ、リンパ球の機能発現を示し、免疫現象の1つの指標とされている。また、それぞれのマイトーゲン刺激に対するリンパ球の応答はリンパ球のサブセットによって異なり、その反応性から作用するサブセットを推測することができる。¹⁷⁾

今回、著者らは細胞性免疫に作用する薬物を開発する目的で、ヒト末梢血リンパ球の幼若化反応を指標に、古来より経験的にアレルギー性疾患等に用いられている生薬の検討を行った。その結果、地榆、赤芍、甘草、*C. aromaticus* の各エキスに S.I. 値の上昇、遠志、和厚朴、麻黄、南天葉の各エキスに S.I. 値の低下が認められた。以上の生薬のうち南天については、既にその果実の成分から抗アレルギー剤が開発され、臨床的に用いられている。¹⁸⁾しかし、ヒト末梢血を用いる方法は、多数の検体のスクリーニングや、さらに詳細な検討を行う上で限界があり、とくに多量のヒト末梢血を実験に使用することは困難である。そこで、著者らは実験材料の入手が容易である、マウス脾細胞を用いた実験系で検討した。この際、通常免疫学的検討に用いる純系マウスではなく、ヒトと同様に遺伝的に雑種である ddY

マウスを採用し、その結果は統計的に評価した。まず、マウス脾細胞を用いる実験系が、ヒト末梢血リンパ球を用いる実験系と相関するか否かを調べるため、ヒトリンパ球で作用の認められた生薬について検討したところ、ヒトにおいてみられた S.I. 値の上昇、あるいは低下が、若干反応性が低下するものの、ddY マウス脾細胞を用いた実験系でも再現されることがわかった。このことはヒトから ddY マウスへの実験系の移行が可能であることを示すと共に、今回検討した生薬に認められた作用はヒトとマウスの間で、動物種を越えて、免疫系に対して共通の作用を有していることが示唆された。次に、マイトージェン併用時における作用を検討したところ、赤芍は、PMA と併用の場合、特異的に反応性が高まっており、その至適濃度は赤芍単独の場合と同じ $1 \mu\text{g/ml}$ であった。このことから、赤芍は PMA の幼若化活性に対して増強効果を有し、Touraine らの報告¹²⁾ にもあるように、PMA がヘルパー T cell に主に反応することから、その作用はヘルパー T cell と深く関係しているものと推察された。しかし、近年、PMA と T cell との反応を示す報告の中でサブプレッサー T cell 刺激を示すものもあるが、本実験で Con A 併用時に作用を示さなかったことから、少なくともサブプレッサー T cell 以外の T cell subpopulation に作用する可能性が強いと推察された。

さらに活性成分の検討を行ったところ、上記赤芍の作用は極性の高い分画に存在することが判った。また、既に赤芍から単離報告されている、paeoniflorin, benzoyl paeoniflorin, paeonol, benzoic acid の4種と、paeoniflorin の代謝物、paeonimetalbolin I について幼若化活性を調べたところ、これらには顕著な作用は認められなかった。さらに、ヒトリンパ球では、白芍には顕著な作用が認められず、赤芍にのみ幼若化活性が認められたことから、両者の相違点として報告されているコルク皮の部分に多く含まれるガロタンニン類¹⁹⁾ についても幼若化活性を検討したが、これらにも顕著な作用は認められなかった。しかし、実験に用いた白芍（日本産）と赤芍（中国産）は産地が異なり、Fig. 5 に示したように赤芍自体も産地により、かなり作用や活性に差があることから、芍薬のコルク皮に活性物質が存在すると結論を下すにはさらに検討の余地がある。以上のことから、少なくとも赤芍の作用は、上記以外の成分の関与が示唆された。山原らは、²⁰⁾ 漢方処方ではアレルギー性疾患に用いられる小青竜湯が、塩化ピクリルによる皮膚反応（遅延型アレルギー

反応の病態モデル）を有意に抑制し、その構成生薬中の芍薬にその作用が著しいことを報告している。さらに、芍薬中に含まれる paeoniflorin にも同様な作用が認められることから、この paeoniflorin が、活性成分であろうと推定している。しかし、今回、著者らの行った実験から、ヒト末梢血やマウス脾細胞のリンパ球幼若化反応には paeoniflorin はあきらかに作用がなく、活性成分は更に極性の高い化合物と思われる。今後、さらに分画、精製を進め、活性成分を明らかにする必要がある。

また、今回検討した生薬のうち、*C. aromaticus* は、インド医学（アーユルヴェーダ医学）で、アレルギー性疾患の治療に用いられている薬物であるが、²¹⁾ この薬物にも比較的強い作用が認められた。そこで、現在アーユルヴェーダ薬物のリンパ球に対する幼若化活性についても検討中である。

結 論

古来よりアレルギー性疾患に用いられている45種の生薬について、リンパ球に対する幼若化活性を検討した。

1) 地榆、赤芍、甘草、*Coleus aromaticus* のエキスをヒト末梢血リンパ球に対する幼若化活性が認められ、遠志、和厚朴、麻黄、南天葉のエキスを幼若化の抑制作用が認められた。

2) ヒト末梢血リンパ球で作用のあった、赤芍、*C. aromaticus*、和厚朴はマウス脾細胞にも同様の作用を示した。

3) 赤芍は、マウス脾細胞において、マイトージェン (phorbol myristate acetate; PMA) と併用した時、PMA 特異的な幼若化活性を増強した。このことは、赤芍のリンパ球に対する幼若化活性がヘルパー T cell に深く関与していることを示している。

4) 赤芍エキスのこれらの幼若化活性は、各種溶媒で分配したところ、極性分画に存在した。

謝 辞

本研究は、富山県の「和漢薬・バイオテクノロジー受諾研究」(昭和61-62年度)の一部を成すものである。

本研究に当たり、御支援を頂いた、鶴居薬品工業株式会社(富山)に感謝する。また、ガロタンニン標品を恵与された山岸喬、西沢信、両博士(北海道立衛生研究所)に感謝する。

文 献

- 1) Iwama, H., Amagaya, S. and Ogihara, Y. : Effects of five Kampohozais on the mitogenic activity of lipopolysaccharide, concanavalin A, phorbol myristate acetate and phytohemagglutinin *in vivo*. *J. Ethnopharmacology* **18**, 193-204, 1986.
- 2) 足立伊左雄, 安田晶子, 松原利行, 上野雅晴, 寺沢捷年, 堀越 勇 : Macrophage Procoagulant Activity に及ぼす漢方方剤煎液の影響 (第1報). *薬学雑誌* **104**, 959-965, 1984.
- 3) 川野 豊, 野間 剛, 吉沢いづみ, 馬場 実, 矢田純一 : 特異抗原で誘導されるリンパ球のインターロイキン-2 反応性に及ぼすトラニラストの影響についての検討. *アレルギー* **37**, 47-52, 1988.
- 4) 阪上吉秀, 溝口靖紘, 宮島慶治, 久保井広志, 小林絢三, 木岡清英, 申 東桓, 武田 弘, 森澤成司, 山本祐夫 : 十全大補湯の抗腫瘍活性および γ -インターフェロンとインターロイキン2 産生誘導能について. *アレルギー* **37**, 57-60, 1988.
- 5) 大野修嗣 : 漢方薬「補中益気湯」の Natural-killer 細胞活性に及ぼす影響. *アレルギー* **37**, 107-114, 1988.
- 6) 小島弘敬, 高安久雄, 亀井喜世子, 常松之典 : ヒト末梢血白血球の芽球様化反応の基礎的検討. *アレルギー* **21**, 540-552, 1972.
- 7) 矢田純一, 藤原道夫 : “新リンパ球機能検索法,” 中外医学社, 東京, pp. 16-18, 108-113, 289-292, 350-361, 1987.
- 8) 今井康之 : 免疫細胞の分離培養法. *BIOmedica* **2**, 465-469, 1987.
- 9) Andersson, J., Möller, G. and Sjöberg, O. : Selective induction of DNA synthesis in T and B lymphocytes. *Cell. Immunol.* **4**, 381-393, 1972.
- 10) Innes, J., Kuntz, M., Kim, Y. and Weksler, M. : Induction of suppressor activity in the autologous mixed lymphocyte reaction and in cultures with concanavalin A. *J. Clin. Invest.* **64**, 1608-1613, 1979.
- 11) Farnes, P., Barker, B., Brownhill, L. and Fanger, H. : Mitogenic activity in *Phytolacca americana* (Pokeweed). *Lancet* **21**, 1100, 1964.
- 12) Touraine, J., Hadden, J., Touraine, F., Hadden, E., Estensen, R. and Good, R. : Phorbol Myristate Acetate : A mitogen selective for a T-lymphocyte subpopulation. *J. Exp. Med.* **145**, 460-465, 1977.
- 13) Kaneda, M., Iitaka, Y. and Shibata, S. : Chemical studies on the oriental plant drugs XXXIII. *Tetrahedron* **28**, 4309-4317, 1972.
- 14) Hattori, M., Shu, Y., Shimizu, K., Hayashi, T., Morita, N., Kobashi, K., Xu, G. and Namba, T. : Metabolism of paeoniflorin and related compounds by human intestinal bacteria. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 3838-3846, 1985.
- 15) “SAS user's guide : statistics, version 5 edition,” SAS Institute Inc., New Caledonia, pp. 113-137, 1985.
- 16) 笠原 忠, 伊藤喜久 : 細胞培養試験と分裂促進物質. *臨床検査* **23**, 660-667, 1979.
- 17) 小林茂人, 平野隆雄 : リンパ球. *臨床免疫* **18**, 604-615, 1986.
- 18) 近藤直実, 縣 裕篤, 福富 悌, 折居忠夫 : 食餌抗原によるリンパ球幼若化反応に及ぼす抗アレルギー剤の作用. *アレルギー* **36**, 917-920, 1987.
- 19) 西澤 信, 山岸 喬, 野中源一郎, 西岡五夫 : 芍薬中のガロタンニンの定量. *薬学雑誌* **104**, 1244-1250, 1984.
- 20) 山原條二, 山田敏雄, 木村 均, 沢田徳之助, 藤村一 : 生薬の生物活性成分に関する研究. 小青竜湯の抗アレルギー作用成分 (第1報) 遅延型アレルギーに対する効果. *薬学雑誌* **102**, 881-886, 1982.
- 21) Dymock, W., Warden, C.J.H. and Hooper, D. : “Pharmacographia Indica. vol. III,” M/S Bishen Singh Mahendra Pal Singh and M/S Periodical Experts, Delhi, pp. 90-92, 1976.