

■ シンポジウム2 「漢方薬物の伝承薬能をさぐる ～モレキュラーアプローチ～」

S-2-1 漢方薬の利水作用とアクアポリン水チャネルの機能調節

磯濱洋一郎（熊本大学大学院医学薬学研究部薬物活性学分野）

Aquaporin (AQP) は、細胞膜を介した水の移動を促進する水チャネルであり、ほ乳類では13種類のAQPアイソフォームが全身に分布している。近年では、各AQP類の欠損マウスも作られ、多尿、皮膚乾燥あるいは外分泌機能の低下など、各AQP類の局在とよく相関した表現型が生じることも分かってきた。すなわち、AQP類は様々な疾患に伴って生じる浮腫を始めとする水分代謝異常を改善するための新たな治療ターゲットであると考えられている。一方、利水作用は、漢方薬の最も特長的な作用の一つである。利水作用には、体外への水分排出促進作用だけでなく、滋潤作用すなわち水分保持作用の両面があり、しかも血液中の電解質濃度への影響が少ないと考えられるなど、西洋医学的な利尿作用とは明らかにその特性が異なっている。我々は、この漢方薬の利水作用の一部は、AQPの機能調節ではないかとの考えのもとに薬理学的研究を行っている。これまでに、代表的利水薬である五苓散がAQP類を介した水透過性を阻害することを*in vitro*の実験系により明らかにし、また本作用には構成生薬の蒼朮等に含まれる金属イオンが重要であることを示してきた。

一方、水分代謝異常は炎症に伴う症状として生じる場合が多い。そこで、外分泌腺型のAQP5活性に対する一酸化窒素 (NO) の作用を調べたが、種々のNOドナーはAQP5を介した水の透過を著明に抑制することが分かった。このNOによる阻害には、AQP5構造の中で、水が通過する孔の近傍にあるシステイン残基のS-ニトロシル化が関わると考えられ、これが炎症時の水分分泌低下や乾燥症状に関わる可能性が考えられた。そこで、滋潤効果をもつとされる麦門冬湯の作用を調べると、麦門冬湯はNOによるAQP5のS-ニトロシル化および活性低下を著明に抑制することが分かった。さらに、皮膚のケラチノサイト型のAQP3では、炎症性サイトカインTNF- α がそのmRNA発現を抑制し、細胞膜表面のAQP3数が減少させることも分かった。このTNF- α によるAQP3発現の低下はNF- κ B非依存的であり、MAPキナーゼが関わっていた。また、ステロイド薬は少なくとも*in vitro*の実験系では、TNF- α によるAQP3発現の低下を抑制できなかった。しかし、十味敗毒湯や荊芥連翹湯など皮膚科領域で用いられる漢方方剤に含まれる荊芥のエキ스는AQP3の発現を濃度 (1-100 μ g/ml) 依存的に増加させ、本生薬を含む方剤に皮膚乾燥を予防する作用があると推定された。

これらの成績は、AQP類の機能および発現の低下が炎症部位での水分代謝異常の原因となる可能性を示すものであり、また、漢方薬の利水作用の一部には、このAQP類の機能および発現の調節が関わることが示唆された。今回は特に、これらの炎症時のAQPと漢方薬の作用を中心に報告したい。

略歴

1991年 熊本大学薬学部教務員
1997年 熊本大学薬学部助手
2000年 熊本大学薬学部助教授
2003年 熊本大学大学院医学薬学研究部助教授（現 准教授）
現在に至る

S-2-2 腎虚の科学化と補腎漢方薬の薬理作用 ～老化における腎の意味するところ～

溝口 和臣（国立長寿医療センター研究所老年病研究部東洋医学研究室）

人口の21%以上が65歳以上の高齢者という超高齢社会を迎えている現日本では、高齢者疾患に対する予防・治療法の拡充が求められている。高齢者は一人で幾つもの病を患う“多病”という特徴を有し、多病の背景には、老化に基づく何らかの共通した基盤的な要因が存在するという老年病学的概念がある。漢方医学にも類似の概念があり、それは“腎虚”と呼ばれる。老化により腎虚に陥ると、認知機能障害や意欲の低下、腎臓機能障害、腰痛や膝関節痛、骨密度低下、糖尿病、排尿障害、耳鳴り、視力低下、毛髪脱毛等の様々な老化症状が現れると考えられている。

本研究は、多くの老化症状に共通する基盤的要因を探るために、腎虚の科学化を実験的に試みたものである。また、本来漢方薬は方証相対の原則に則って処方されるため、本質的な漢方薬の薬理作用は“証”の中にあるとの考えに立ち、腎虚候補要因に対する補腎漢方薬（本研究では八味地黄丸）の作用を検討した。

近年の漢方医学の現代医学的解釈の伸展により、腎虚の一部は、視床下部－下垂体－副腎軸、－性腺軸、－甲状腺軸の機能低下により表現されるとされている。この理論は、特に性ホルモンと甲状腺ホルモンの血中濃度は老化により低下するという事実から、一定の合理性があると我々は判断した。さらに我々は、“腎”の概念が腎臓そのものを含有することにも着目し、老化により腎臓の機能は低下することや、腎臓はカルシウム（Ca）の吸収、分布、代謝、排出に関与することから、老化によるCa動態の乱れを想定した。

以上を踏まえ我々は、老齢動物（24ヶ月齢以上の雄性ラット）を用いて解析を進めた。その結果、老化により、高血糖状態に加え甲状腺ホルモン（T3）とテストステロンの血中濃度低下が観察されたが、グルコルチコイドには変化が認められず、これらはヒトの結果と同一であった。また、グルコルチコイドの脳における役割について検討してみると、老化により、前頭前野においてグルコルチコイドを介する作用の低下が観察され、この低下によりドーパミンやセロトニン神経系の機能低下が発生し、認知機能障害や意欲の低下が発生することが示唆された（Mizoguchi et al., *Neuroscience*, 2009）。“腎”が担当する脳機能の一つは認知機能とされていることから、これらの結果は、脳の腎虚状態を表現していると考えている。

老化によるCa動態に及ぼす一連の検討結果と既報の事実から、「老化により、腎臓や肝臓の機能が低下して活性型ビタミンDの血中濃度が低下する。この低下により消化管からのCa吸収が減少し、そこに腎臓機能低下によるCa排出の亢進が加わり、生体はCa不足に陥る。すると、副甲状腺ホルモン（PTH）分泌が亢進し、骨吸収によりCaが血中へ動員される。血中Ca濃度は維持されるが、PTH濃度の持続的な上昇は、骨密度を低下させるばかりでなく、多くの組織での石灰化や細胞内Ca濃度の異常な上昇を引き起こし、腎臓や肝臓を含む多くの臓器の機能が低下する」という“負のスパイラル”が発生すると思われるに至り（Ikeda et al., *Nephrology, in press*）、老化、“腎”、腎臓の関連性が見出された。

八味地黄丸は、老齢ラットの寿命を延長させると共に、高血糖状態や甲状腺ホルモンの低下を改善し、さらに前頭前野のグルコルチコイド作用の低下を改善することにより認知機能障害や意欲の低下を改善した。また八味地黄丸は、老化による腎臓からのCa排出亢進を是正し、高濃度血中PTHを低下させた（Ikeda and Mizoguchi, *J. Ethnopharmacol.*, 2009）。

以上の研究成果から、腎虚の科学化と八味地黄丸の薬理作用を想定する上で、内分泌系ホルモンと、腎臓を中心としたCa動態の役割が重要であると我々は考えている。

略歴

1989年 東京薬科大学薬学部卒業
1991年 東京薬科大学大学院修士課程修了
1991年 株式会社ツムラ入社薬理研究所配属
2004年 国立長寿医療センター研究所老年病研究部東洋医学研究室室長
現在に至る

S-2-3 麻黄剤の辛温解表作用とその機序の解析

永井 隆之*、山田 陽城

(北里大学北里生命科学研究so和漢薬物学研究室、北里大学大学院感染制御科学府、北里大学東洋医学総合研究所)

漢方方剤の薬効を現代薬理学及び活性成分の面から解明し、科学的根拠を付与することは、漢方医学の将来の発展のために必要不可欠である。麻黄剤は傷寒論及び金匱要略に収載され、傷寒の太陽病に用いられる。太陽病は発熱、悪寒、頭痛などを特徴としていることから、インフルエンザなどの急性の感染症の初期に相当すると考えられている。我々はこれまでに、麻黄剤（小青竜湯、麻黄湯）のインフルエンザウイルス感染に対する有効性を動物実験により明らかにしてきた。そこで、本講演では小青竜湯と麻黄湯のインフルエンザに対する有効性の気道免疫系を介した機序と活性成分に関する我々の研究を紹介する。

1. 小青竜湯のインフルエンザウイルス感染に対する作用と作用成分

BALB/cマウス（♀、7週齢）に感染7日前から4日後まで小青竜湯を0.5g/kgの用量で経口投与後、インフルエンザウイルスA/PR/8/34（H1N1）を上気道感染させたところ、感染5日後に鼻腔洗液中のウイルス価が有意に低下した¹⁾。また、小青竜湯は気道における抗インフルエンザウイルスIgA抗体価を有意に上昇させた。小青竜湯は経口投与により、腸管粘膜免疫系の誘導組織であるパイエル板のTリンパ球を活性化し、鼻腔領域リンパ球における抗インフルエンザウイルスIgA抗体産生細胞数を増加させた。これらの結果より、経口投与された小青竜湯は腸管粘膜免疫系を活性化し、共通粘膜機構（common mucosal immune system）を介して気道粘膜免疫系での抗体産生を促進することによって、インフルエンザウイルス感染を防御する可能性が示唆された。

小青竜湯の構成生薬について、抗インフルエンザウイルス抗体産生増強作用を検討したところ、半夏に高い活性が認められた。そこで、半夏から抗体産生増強活性成分の精製を行ったところ、脂肪酸のピネリン酸（9,12,13-トリヒドロキシ-10*E*-オクタデセン酸）が同定された。9,12,13-トリヒドロキシ-10*E*-オクタデセン酸には8種の立体異性体が存在するが、各立体異性体を有機合成したところ、単独では活性を示さず、9*S*,12*S*,13*S*体と9*S*,12*R*,13*R*体の混合物が経口投与により、活性を示すことが明らかとなった。これは、立体異性体の複合作用により、免疫増強活性が認められた初めての報告である。

2. 麻黄湯のインフルエンザウイルス感染に対する作用

麻黄湯は臨床においてインフルエンザの治療に用いられている。しかし、その作用の基礎的検討は殆ど行われていない。そこで、麻黄湯のインフルエンザに対する作用をマウスを用いて検討した。A/Jマウス（♀、7週齢）にインフルエンザウイルスA/PR/8/34（H1N1）を上気道感染させ、4時間後から2日間、麻黄湯を給水瓶から自由摂取させたところ、水を摂取させたコントロールと比べ、解熱作用が認められた。また、麻黄湯は感染2日後において鼻腔及び肺洗液のインフルエンザウイルス価を低下させ、鼻腔洗液、肺洗液、血清の抗インフルエンザウイルス抗体価を上昇させた。麻黄湯は非感染マウスに投与すると、体温上昇作用を示し、血清中のインフルエンザウイルス結合性抗体価を上昇させた。これらの結果から、麻黄湯はインフルエンザウイルスと交差性を有する自然抗体を上昇させることにより、インフルエンザに対して治療効果を示す可能性が示唆された。

麻黄湯や小青竜湯などの麻黄剤は辛温解表剤に分類されている。我々は、小青竜湯と麻黄湯がいずれも気道免疫系を活性化して抗インフルエンザウイルス活性を示すことを明らかとした。これらのことより、麻黄剤の辛温解表作用を現代科学的に翻訳すると、気道免疫系の活性化（辛温）による呼吸器感染ウイルス等の病原体（風寒の邪）に対する治療効果（解表）とも考えられる。

略歴*

1984年 北里大学大学院薬学研究科修士課程修了
1984年 北里研究所東洋医学総合研究所研究員
2001年 北里大学北里生命科学研究so講師
2002年 北里大学大学院感染制御科学府講師（兼任）
現在に至る

S-2-4 加工ブシ末の「温裏祛寒作用」

牧野 利明（名古屋市立大学大学院薬学研究所生薬学分野）

【目的】

附子は漢方医学において重要な生薬であり、その中薬学的な薬能は温裏祛寒、回陽救逆、散寒止痛である。附子の有効成分はアコニチンやメサコニチンを代表とするアルカロイドとされているが、それらは毒性が強いため、医療現場では高温高压処理などの修治を施したものが使用され、第15改正日本薬局方では修治後の附子を「加工ブシ」として収載している。本研究では、加工ブシの温裏祛寒作用に関する検討を行った。

【方法】

ddY系雄性マウスを4℃環境で10日間飼育した。加工ブシ末は飼料に混合してその10日間自由に摂取させた。マウスの直腸温は、低温環境飼育開始3日前から9日後まで隔日で測定した。その後マウスを屠殺し、脾臓、白色脂肪組織（WAT）および褐色脂肪組織（BAT）を採取した。脾臓からはリンパ球を得て、ナチュラルキラー（NK）活性を測定した。WATおよびBATにおいては、uncoupling protein（UCP）-1の発現を解析した。

また、加工ブシ末をアンモニア水・エーテル混合液で抽出し、エーテル層をアルカロイド画分とした。水層および残渣を3時間煮沸して熱水不溶部を得、熱水抽出液にEtOHを添加することにより、非アルカロイド80%EtOH可溶部と不溶部に分画し、同様の検討を行った。

【結果】

マウスを4℃で飼育することにより直腸温は約1℃低下した。10日間の低温環境飼育により、脾臓リンパ球NK活性の低下、WAT重量の低下と、BATにおけるUCP-1発現の上昇が認められた。低温環境飼育による低体温と脾臓NK活性の低下は、加工ブシ末の投与により用量依存的に回復し、1 g/kg/dayの投与量でほぼ正常レベルまで改善した。減少したWAT重量および上昇したBATにおけるUCP-1発現は、加工ブシ末の投与によりさらに亢進していた。なお、マウスを室温環境で飼育した時には、加工ブシ末投与による体温と脾臓NK活性の上昇は認められなかった。加工ブシ末の分画物を用いた検討から、それらの作用は非アルカロイド80%EtOH可溶部で認められ、アルカロイド画分には活性は認められなかった。

【考察】

加工ブシ末はマウスの低体温症状およびNK活性低下を改善したが、通常環境飼育マウスでの体温には影響を及ぼさなかったことから、加工ブシ末は単なる体温上昇薬ではなく、あくまで「裏寒」の状態に作用し、陰陽のバランスを保つという漢方薬物らしい作用を示すことが明らかとなった。

UCP-1は、BATにおいて特に発現して「非ふるえ産熱」に置いて重要な役割を果たしているタンパク質である。加工ブシは低温環境飼育により上昇したUCP-1の発現をさらに亢進させたことから、少なくともBATにおける非ふるえ産熱を活性化することにより、低体温を予防することが明らかになった。

以上の加工ブシの作用に関する有効成分は、アルカロイド以外の低分子化合物であることが推定された。附子の鎮痛活性成分とされているメサコニチンは、加熱処理によりベンゾイルメサコニンなどに分解し、毒性が減弱するだけでなく、鎮痛活性も減弱することが知られている。しかし、漢方臨床では修治しても附子の有用性は保たれている。すなわち、附子に期待されている薬能は単なる鎮痛作用ではなく温裏祛寒であり、裏寒にともなう痛みに対して寒さを散らすことで痛みを止めるという散寒止痛である。加工ブシに含まれるアコニチン系アルカロイドは鎮痛活性における有効成分ではあるが、加工ブシの温裏祛寒作用に関する有効成分はそれ以外の熱に安定なアルカロイド以外の低分子化合物であると推定された。本研究で得られた知見は、臨床における加工ブシの有用性を支持するものと考えられる。

略歴

2000年	京都大学大学院薬学研究科博士後期課程修了、博士（薬学）取得	2005年	名古屋市立大学大学院薬学研究科生薬学分野講師
		2007年	名古屋市立大学大学院薬学研究科生薬学分野准教授
2000年	北海道薬科大学漢方薬物学研究室助手		
2002年	米国ミシシッピ大学薬学部天然物研究センターにて訪問博士研究員		