

免疫修飾作用を有する漢方薬の樹状細胞機能に対する作用の解明

申請代表者	福井 宣規	九州大学生体防御医学研究所	教授
所外共同研究者	錦見 昭彦	九州大学生体防御医学研究所	助教
所内共同研究者	門脇 真	病態制御部門消化管生理学分野	教授

【報告セミナー要旨】

近年、「免疫応答の司令塔」である樹状細胞（DC）に関する研究が飛躍的に進展し、その強力な抗原提示能を活用した感染症や悪性腫瘍に対する治療戦略、またアレルギーや自己免疫疾患に対してはDCの機能を制御して過剰な免疫応答や自己免疫応答を抑制する治療戦略などが精力的に研究されている。プロフェッショナルな抗原提示細胞であるDCは、自然免疫応答を行うため感染部位へ速やかに遊走してI型インターフェロン等を分泌すると共に、抗原提示をするためにリンパ球領域へ遊走して獲得免疫応答を惹起する。従って、DCがその機能を発揮するためには、「適切なタイミングで適切な場所」へ遊走する時空間的な解析を行うことが非常に重要となる。しかしながら、これまで「免疫細胞の遊走」という視点から創薬研究を行った報告は少ない。

本研究では、最近、自己免疫疾患やアレルギー疾患、感染症などとの関連が明らかにされつつある形質細胞様樹状細胞（pDC）に着目し、免疫修飾作用を有する漢方薬や漢方方剤含有化合物のpDC機能（遊走能を中心として）に対する作用を明らかにすると共に、それを臨床予測性の高い創薬シートとして創薬研究に繋げることを目的としている。

【方法】 BALB/cマウス骨髓細胞を、Flt3リガンド及びTLR9活性化薬CpG2216により成熟pDCへ分化誘導した。そして、CCL21によるpDCの遊走を遊走性試験装置（EZ-TAXIScan）を用いて定量的に測定した。成熟pDCは各漢方方剤（86種類：0.1mg/ml）で3時間、あるいは漢方方剤含有化合物（80種類：1 μ M）で30分前処置した。

【結果】 86種類の漢方方剤の中で、白虎加人参湯がpDCの遊走に対し抑制効果を、四物湯が亢進効果を示した。さらに有効生薬の検討により、石膏がpDCの遊走能を抑制することを明らかにした。80種類の漢方方剤含有化合物の中で、Alkannin, Amygdalin, Astragaloside IV, Barbaloin, Berberine chloride, Curcumin, (-)-Epigallocatechingallate, beta-Eudesmol, (E)-Ferulic acid, Isofraxidine, OxymatrineがpDCの遊走を強力に抑制し、Bergenin, Capsaicin, Coptisine Chloride, Glycyrrhizic acid, Gomisin N, Hesperidin, Palmatine chlorideが亢進作用を示した。特に、消炎作用を持つ黄柏や黄連に含まれるBerberine chloride、抗炎症作用が報告されているCurcumin, Astragaloside IV、消炎、駆虫作用を持つ苦参に含まれるOxymatrineなどに強い抑制活性が認められた。また、免疫賦活作用が報告されているGlycyrrhizic acid、ウイルス感染抑制作用が報告されている小青竜湯に含まれるGomisin Nに強い亢進作用が認められた。

【考察】 二つの漢方薬がpDCを作用標的とした免疫調節作用を持つことが示唆された。強いpDC遊走抑制能を示した白虎加人参湯は、患部においてpDCの増多が報告されてアトピー性皮膚炎に対して頻用され、治療効果が報告されている。白虎加人参湯によるアトピー性皮膚炎に対する治療効果に

は、pDCの遊走能抑制作用が関与することが推察された。

また、多くの化学構造の異なる漢方方剤含有化合物に比較的低濃度(1 μ M)でpDCの遊走修飾作用が認められ、漢方方剤を創薬リソースとする創薬シードを見出す可能性が示唆された。

■背景および目的

漢方薬は生体の恒常性の維持やバランスに重きを置く薬物治療体系であり、生体の重要な制御システムである免疫系は、必然的に漢方薬治療の大きなターゲットとなっている。現在用いられている漢方薬のなかには、①生体の防御機能が低下した患者に対して免疫系を賦活することにより感染症などに対する抵抗性を高める作用を持つもの(十全大補湯、葛根湯、麻黄湯、人參養榮湯、四物湯など)、②アレルギーや自己免疫性疾患などに対して過剰な免疫反応を抑制する作用を持つもの(小青竜湯、補中益気湯、柴苓湯、白虎加人參湯など)などが数多くあり、臨床では様々な漢方薬が免疫性疾患に用いられ、症状改善や発症の抑制が報告されている。

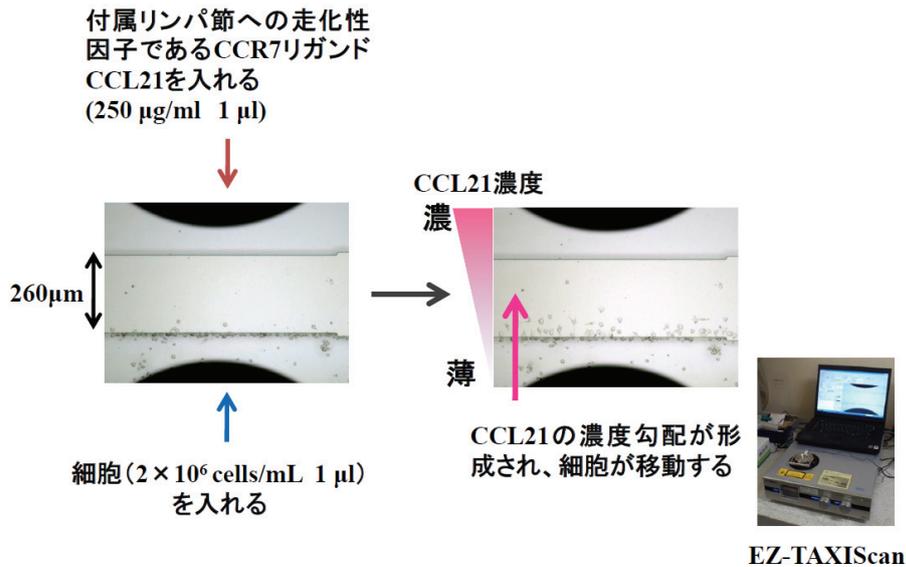
しかしながら、漢方薬の免疫性疾患に対する臨床応用は経験則を基にしたものが殆どであり、その作用機序などの詳細な科学的検証は十分ではない。最近、樹状細胞(DC)が、免疫応答の制御に中心的な役割を果たしている「免疫応答の司令塔」であると考えられるようになり、現在では、DCに対する基礎的知見の集積段階から、徐々に治療標的あるいは創薬標的としての臨床応用に向けて、DCの強力な抗原提示能を活用した感染症や悪性腫瘍に対する免疫賦活、あるいは免疫応答制御能を応用した過剰な免疫応答や自己免疫反応の抑制、さらには樹状細胞の活性化を介したワクチン開発など様々な試みがなされていて、精力的な研究が展開されている。

一般的に、免疫系細胞は遊走機能を持つが、特にプロフェッショナルな抗原提示細胞であるDCは、リンパ球へ抗原提示を行うため、付属リンパ節やリンパ球領域へ遊走して獲得免疫応答を惹起すると共に、自然免疫応答を行うため、感染組織等へ速やかに遊走し、I型インターフェロン等を分泌する。従って、DCがその機能を発揮するためには、適切なタイミングで適切な場所へ遊走する時空間的な解析を行うことが非常に重要である。しかしながら、これまで、「免疫系細胞の遊走」という視点からの免疫機能の研究は少なく、遊走能をスクリーニングや薬効評価に取り入れて、創薬研究を行った報告も殆どない。

本研究では、免疫修飾作用を有する漢方薬のこれまで殆ど研究されていないDC機能に対する作用を明らかにして、免疫性疾患に対する漢方薬治療の臨床医学的合理性を科学的に検証すると共に、漢方薬をリード方剤や創薬リソースとして活用し、より有用な新規治療薬や新規方剤の開発という臨床予測性の高い創薬研究に繋げることを目的とした。

■方法

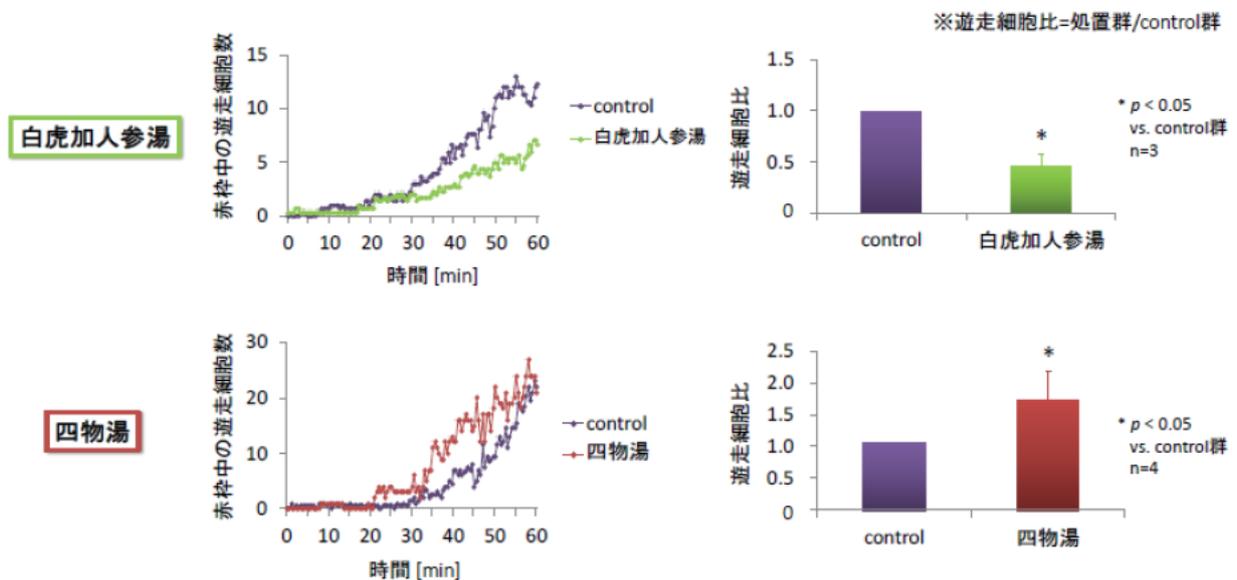
採取したBALB/cマウス大腿骨髄細胞を、Flt3リガンド添加RPMI1640培地で6-8日間培養して未成熟なpDCへ分化誘導し、さらに、TLR9活性化薬であるCpG2216(2 μ M)で24時間刺激して成熟させた。そして、走化性因子であるCCL21を用いて成熟pDCを遊走させ、遊走性試験装置(EZ-TAXIScan)を用いて定量的に測定した。成熟pDCは各漢方方剤(86種類:0.1mg/ml)で3時間、あるいは漢方方剤含有化合物(80種類:1 μ M)で30分前処置した。



■結果

86種類の漢方方剤の中で、白虎加人参湯がCCL21によるpDCの遊走に対し抑制効果を示し、四物湯が亢進効果を示した。白虎加人参湯は、CCL21刺激によるpDCの遊走能に対し、移動速度及び移動方向性を共に強力に抑制した。さらに、有効生薬の検討により、特に石膏がpDCの遊走能を抑制することを明らかにした。

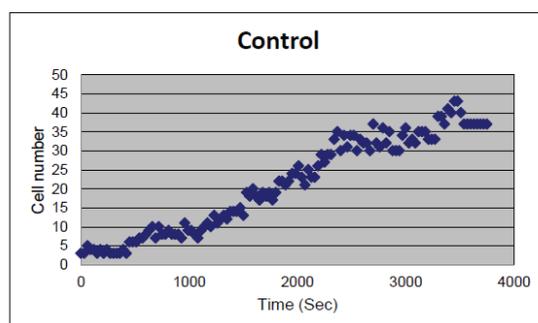
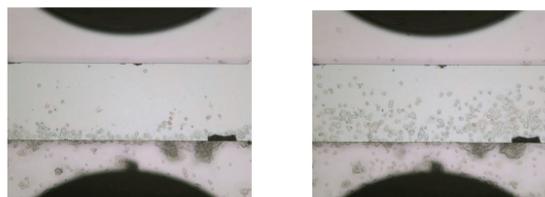
pDCの遊走能に対して抑制効果を示した白虎加人参湯、促進効果を示した四物湯の解析を行った。



80種類の漢方方剤含有化合物の中で、Alkannin, Amygdalin, Astragaloside IV, Barbaloin, Berberine chloride, Curcumin, (-)-Epigallocatechin gallate, beta-Eudesmol, (E)-Ferulic acid, Isofraxidine, OxymatrineがCCL21によるpDCの遊走を強力に抑制し、Bergenin, Capsaicin, Coptisine Chloride, Glycyrrhizic acid, Gomisins N, Hesperidin, Palmatine chloride が亢進作用を示した。特に、消炎作用を持つ黄柏や黄連に含まれる Berberine chloride, 抗炎症作用が報告されている Curcumin, 抗アレルギー作用を持つ消風散に含まれる Oxymatrineなどに強い抑制活性が認

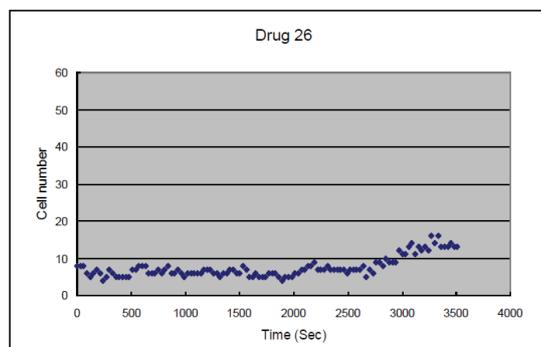
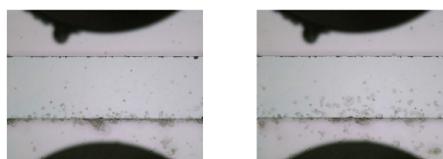
められ、免疫賦活作用が報告されている Glycyrrhizic acid, ウイルス感染抑制作用が報告されている 小青竜湯に含まれる Gomisin Nに強い亢進作用が認められた。

Control



Curcumin

Concentration 1 μ M



■ 考察

二つの漢方薬が、pDCを作用標的とした免疫調節作用を持つことが示された。強いpDC遊走抑制能を示した白虎加人参湯は、臨床においてアトピー性皮膚炎に対して頻用され、有用な治療効果が報告されている。アトピー性皮膚炎患者では患部においてpDCの増加が報告されており、白虎加人参湯によるアトピー性皮膚炎に対する治療効果には、pDCの遊走能抑制作用が深く関与することが推察された。また、白虎加人参湯によるpDCの遊走能抑制作用は、石膏を中心とした複数の生薬による相乗的な作用であることが示唆された。

また、多くの化学構造の異なる漢方方剤含有化合物に比較的低濃度(1 μ M)でpDCの遊走修飾作用が認められ、漢方方剤を創薬リソースとする天然物由来化合物に創薬リードを見出す可能性が示唆された。