

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）  
分担研究報告書

薬効成分を有する天然物—生薬、漢方製剤—の安全性に関する研究

分担研究者 関田 節子 国立医薬品食品衛生研究所生薬部室長

研究要旨

間質性腎炎の原因物質とされるアリストロキア酸については、生薬、生薬・漢方製剤の品質を確立するために、アリストロキア酸の定量法を公定書に記載するための研究を行った。

アメリカの Dietary supplement の動きを反映して、最近、多くのアミノ酸製品、ビタミン製品、ミネラル製品に加えてハーブ製品が出回っている。この中で、セントジョーンズ ワーツとの名称で売買されているものが薬物代謝酵素阻害により薬物相互作用に影響を与え、海外では治療中の患者に被害が発生している。そこでFDA 情報を収集した。これに関しては安全対策課が副作用情報で警告を発した。

## A. 研究目的

生薬および漢方製剤は天然由来の医薬品であるので一般に無害であるとの誤った認識が世界的に広まっていたが、アristoloxia酸を含む製剤による間質性腎炎とその進行による発癌並びに小柴胡湯による間質性肺炎が報告され、安易な服用に警告がもたらされた。本研究では、国内外の情報を迅速に収集し対策を講じることにより、これらの副作用被害を阻止することを目的に検討を続けてきた。

アristoloxia酸については、間質性腎炎などの有害な作用を引き起こすことからイギリス、カナダ、アメリカがそれぞれ生薬・生薬製剤の輸入時にはアristoloxia酸含有生薬はもとより、基原植物種が異なりアristoloxia酸は含有していないことが確認されている生薬であっても名称の類似したものについては含有しないことを証明する書類の提出を求めるという厳しい規制を打ち出した。これに応じて日本漢方生薬製剤協会は国内で製造または輸入販売される生薬および生薬・漢方製剤についてアristoloxia酸を含有しないことを確認し、品質を保証する目的で自主基準を策定した。そこでこの基準案を検討し、公定書に収載するための定量法を設定した。昨年度、関木通から分離精製したアristoloxia酸 I と II を標準品とした定量法を報告しているが、現在十分な標準品を供給出来る体制にはないため、

市販品のアristoloxia酸混合物を用いた定量法を検討した。

## B. 研究方法

対象生薬はモクツウ、モッコウ、ボウイ、サイシン、さらにこれらの生薬が配合されている生薬・漢方製剤とした。なお、輸入製剤も対象とする。生薬は納入ロット毎に、製品については定期的に検査を実施し、輸入製剤については製品ロット毎に試験する。定量法は高速液体クロマトグラフ法とした。

## C. 研究結果

アristoloxia酸の定量法として以下に示す液体クロマト法を検討した。標準溶液と漢方製剤で得られたチャートを Fig 1 に示す。

試料調整：粉末とした試料 2.0g をとり、メタノール・水混液（3：1）50 mL を加えて 15 分間振り混ぜ（超音波の場合は 20 分間）、ろ過し資料溶液とする。

標準溶液：標準品は Sigma 社製の Aristolochic acid を用いる。アristoloxia酸 I 10mg 相当量 X mg を正確に量り、メタノール／水混液(3:1)に溶かし、正確に 200ml とする。この液 2mL を正確に量り、メタノール／水混液(3:1)を加えて正確に 250mL とし、標準溶液とする。

ラベルに表示されているアristoloxia酸 I の純度：F(%)により補正する。 $X \text{ mg} = 10 \times 100 / F$   
標準的な試験法および試験の判定

試料溶液および標準溶液 10 $\mu$ L ずつを性格にとり、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行うとき、資料溶液には標準溶液のアリストロキア酸 I に対応する保持時間にピークを認めない。認めた場合は、条件を変更して分析し、このピークがアリストロキア酸でないことを確認する。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：400nm）

カラム：内径 4.6mm、長さ 25cm のステンレス管に 5 $\mu$ m の液体クロマトグラフ用オクタデシル化シリカゲルを充てんする。

カラム温度：25 ~40  $^{\circ}$ C の一定温度

移動相：0.05mol / L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ( $\text{H}_3\text{PO}_4$  2mL / L)  $\text{CH}_3\text{CN}$  混液 (11:9)

流量：1.0ml / min

リン酸二水素ナトリウム二水和物 7.8g リン酸 2mL に水を加えて溶かし、1L とする。

操作条件は「日局」一般試験法・液体クロマトグラフ法の範囲内で変更してもよい。

#### D. 考察

設定した条件で、生薬、漢方製剤について検討したところ、薬用部位として認めていないサイシンの花、葉、葉茎部位からはアリストロキア酸を検出したが、薬用部位である根、根茎および漢方製剤には認めなかった。

本定量法については、現在純度の確立したアリストロキア酸標準化合

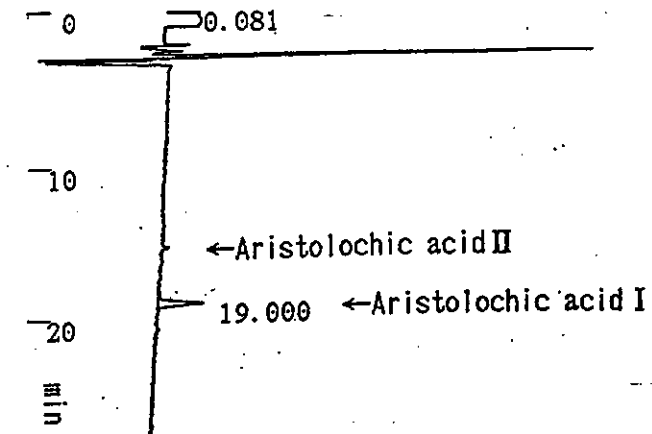
物を設定できないことから市販のアリストロキア酸混合物を利用した定量法を設定した。しかし、市販品は表示しているアリストロキア酸 I と II 以外の類縁化合物を含有している。また、I と II の比率もそれぞれを単離精製した化合物を基に測定すると表示は正確ではないことは明らかである。今後、早急にこれらの点を解決する必要がある。また、分析学上からは対応するピークの認定が極めて難度の高い表現になっているが、有害物質の含有に関することであるため敢えて厳くした。

#### E. 結論

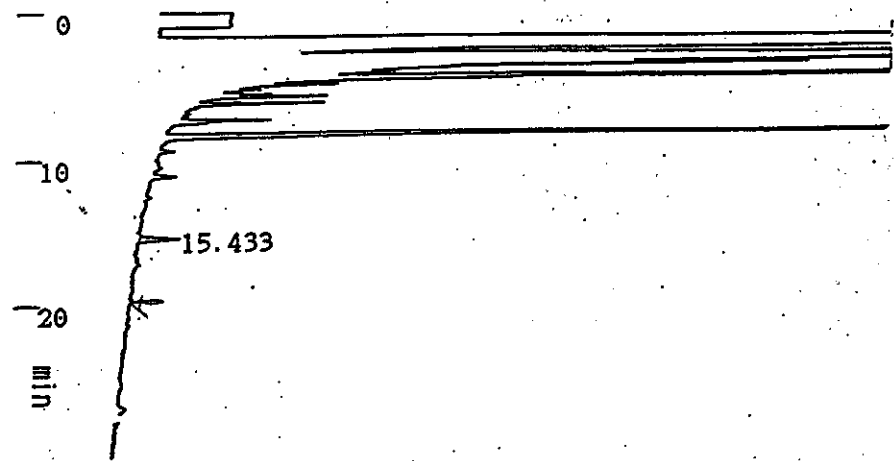
生薬、生薬・漢方製剤に有害なアリストロキア酸が混入することを避けるために定量法を設定し、第 14 改正日本薬局方の参考情報として収載すべく整備した。

測定波長：400 nm

標準溶液



当帰四逆加貝芩生薑湯



防己黃耆湯

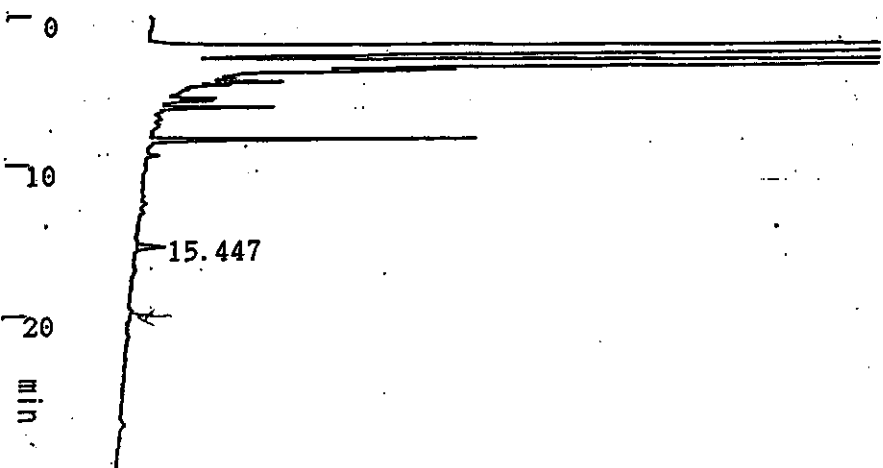


Fig. 1 アristolochic acid の液体クロマトグラフィーと漢方製剤の定量

## セント・ジョーンズ・ワートと医薬品との相互作用について

セント・ジョーンズ・ワート（学名：Hypericum perforatum, 和名：セイヨウオトギリソウ）は、主にヨーロッパから中央アジアにかけて分布している多年生植物である。これを含有する製品（S J W含有製品）は米国や欧州で広く流通しているが、これらを摂取することにより薬物代謝酵素であるチトクローム P450、特にサブタイプである CYP3A4 及び CYP1A2 が誘導されることが知られており、医薬品との相互作用について次のような報告がある。

## (1) インジナビル（抗 HIV 薬）との相互作用について1)

インジナビルは主に CYP3A4 で代謝を受ける薬物であり、S J W 含有製品との併用により血中濃度が低下することが、米国国立衛生研究所（NIH）の研究によって報告されている。本報告によると、18歳以上の健常者 8 人にインジナビルを投与し、投与開始 3 日目から、S J W 含有製品（抽出物 300mg 含有）を 1 日 3 回摂取した結果、S J W 含有製品摂取開始 2 週間後のインジナビルの血中濃度が、非併用時に比べて AUC(0~8) は平均 43% 低下し、Cmax は平均 28% 低下していた。

また、本報告においては、HIV 感染者においては血中濃度の低下により耐性が生じる危険性があることから、インジナビルの投与を受けている場合には S J W 含有製品を摂取すべきではなく、CYP3A4 で代謝される他の HIV プロテアーゼ阻害薬、非核酸系逆転写酵素阻害薬投与時においても S J W 含有製品の摂取を避けることが適当であると言及されている。

## (2) ジゴキシンの(強心薬)との相互作用について2)

ジゴキシンは主にCYP3A4で代謝を受ける薬物であり、S J W含有製品との併用により血中濃度が低下することが、ドイツでの研究によって報告されている。本報告によると、健常者25人をプラセボ群(12人)とS J W含有製品摂取群(13人)に分け、ジゴキシンを5日間投与してジゴキシンの血中濃度が定常状態となったところで、プラセボ又は市販のS J W含有製品(抽出物300mg含有)を1日3回摂取した結果、S J W含有製品摂取開始10日後のジゴキシンの血中濃度が、プラセボ群に比べS J W含有製品摂取群ではAUC(0~24)は平均25%低下し、Cmaxは平均26%低下していた。

### (3) シクロスポリン（免疫抑制薬）との相互作用について3)

シクロスポリンはCYP3A4で代謝を受ける薬物であり、S J W含有製品との併用により血中濃度が低下した臨床例がスイスで2例報告されている。

一例は末期虚血性心疾患のため11ヶ月前に心移植した61歳男性で、もう一例は末期虚血性心疾患のため20ヶ月前に心移植した63歳男性の例である。いずれの症例においても、移植後、シクロスポリン、アザチオプリン等の免疫抑制剤の投与でコントロールされ、シクロスポリン濃度は安定していたが、市販のS J W含有製品（抽出物300mg含有）を1日3回摂取したところ、摂取開始3週間後にシクロスポリンの血中濃度の低下が見られ、生検の結果、急性拒絶反応が観察された。両症例とも拒絶反応を疑わせる他の要因は見あたらず、S J W含有製品の摂取を中止したところ、シクロスポリンの血中濃度は回復した。



#### (4) その他の医薬品との相互作用について4)

いずれも海外における研究であるが、主に CYP3A4 及び CYP1A2 で代謝されるワルファリン、主に CYP3A4 で代謝される経口避妊薬、主に CYP1A2 で代謝されるテオフィリンについて、S J W 含有製品との併用により血中濃度の低下又は作用の減弱が見られた症例が報告されている。

## 分担研究報告書 (平成12年度)

## 生薬小柴胡湯の間質性肺炎修飾作用に関する病理学的研究

分担研究者 渋谷 淳 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 室長

研究要旨：生薬小柴胡湯の間質性肺炎誘発ないし修飾作用を検討するために、Th1 dominant strain で interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) 高発現系の C57BL/6 マウスと、Th1, Th2 どちらも反応することが知られている ICR マウスを用いて以下の実験を行った。昨年度は小柴胡湯単独による間質性肺炎誘発作用を検索する目的で、5週齢の雄 C57BL/6 マウスに小柴胡湯を0 (対照群) ~2.0%の割合で8週間混餌投与し、肺の病理組織学的検索により、小柴胡湯は明らかな肺傷害を誘発しないことを報告した。また、モノクロタリン誘発肺傷害モデル (ICR マウス) の実験デザインをもとに C57BL/6 マウスを用いて0.1% (臨床使用量に相当) ないし2.0%の小柴胡湯混餌投与による肺傷害修飾作用を検索した。さらにヒトで間質性肺炎発症に小柴胡湯と IFN- $\alpha$  の相乗作用が疑われていることから、モノクロタリン誘発肺傷害に対する小柴胡湯と IFN- $\alpha$  併用投与の影響を検討した。その結果、C57BL/6 マウスを用いた場合肺傷害を殆ど誘発せず、小柴胡湯の肺傷害に対する修飾作用ないし IFN- $\alpha$  との相互作用は明らかにできなかった。次に5週齢の雄 ICR マウスにモノクロタリンを150mg/kgの割合で週1回、計5回皮下投与し、モノクロタリン投与期間中から11週間、または投与終了後1週目より6週間小柴胡湯を0.1%ないし2.0%の割合で混餌投与した。その結果、モノクロタリン単独群に比べ、モノクロタリン投与期間中から小柴胡湯を投与した群で、病理組織学的に肺胞壁の線維索性肥厚、肺胞腔内への線維素の析出及びマクロファージの浸潤・集簇、血管周囲炎ないし血管炎等の程度が増強し、2.0%投与群でより明らかであった。また、同 ICR マウスを用いて、モノクロタリンを5回投与後6週間の2.0%小柴胡湯投与期間中に IFN- $\alpha$  を隔日投与したが、IFN- $\alpha$  の投与により肺傷害部位に一致して強いリンパ球浸潤を認めたが、小柴胡湯と IFN- $\alpha$  の相互作用は認められなかった。本年度は小柴胡湯による間質性肺炎発症のメカニズム検討の一環として、上記の ICR マウスを用いた実験の肺について、マクロファージの表面マーカーである Mac-3 とケモカインの一種である monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) の免疫組織学的検索を行うとともに、小柴胡湯の各種サイトカイン発現への影響をみるために、肺組織での Th1/Th2 細胞サイトカイン、TNF シグナリング、炎症性サイトカイン及び MCP-1 の mRNA シグナルの RT-PCR 法による検索を行った。その結果、2.0%小柴胡湯を11週間投与した群で免疫組織学的に Mac-3 陽性マクロファージの出現に増強傾向を認め、MCP-1 陽性細胞の出現スコアもこの群で増加する傾向を示した。サイトカイン mRNA の発現は、肺傷害の強い例で MCP-1 をはじめ IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B に変動を認めたものの、小柴胡湯の投与の有無での群間による明らかな差は認められなかった。

以上の結果から、モノクロタリン誘発マウス肺傷害モデルで、小柴胡湯の長期間投与により肺傷害の発生が増強されることが明らかとなった。小柴胡湯によるモノクロタリン誘発肺傷害修飾作用にサイトカイン誘導が関与している可能性の直接的な証明はできなかったが、肺傷害に血管炎の介在していること及び傷害の強い例で MCP-1 をはじめ数種類のサイトカインの発現増強を認めたことから、小柴胡湯の長期間投与によりモノクロタリン誘発肺傷害発生を早める何らかの免疫学的バックグラウンドの変調することが予測された。

## A. 研究目的

近年、ウイルス性肝炎患者の肝保護作用を目的とした小柴胡湯処方患者にしばしば間質性肺炎の生じることが報告されており、特に

interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) 療法併用例において、その発症リスクの高まることが指摘されている<sup>a)</sup>。しかしこれらの療法による間質性肺炎発症への直接的メカニズムは殆ど明らかで

はない。現在まで小柴胡湯投与による間質性肺炎誘発の実験的証明はなされていないが、小柴胡湯は各種サイトカインの発現状況を変えて間質性肺炎に至らしめる可能性が指摘されている<sup>b)</sup>。本研究では、小柴胡湯の間質性肺炎誘発ないし修飾作用を検討する目的で、IFN- $\alpha$ 高発現系である C57BL/6 マウスと、Th1, Th2 どちらも反応することが知られている ICR マウスを用いて、高用量（臨床使用量の 5-20 倍）の小柴胡湯の投与実験（C57BL/6 のみ）と、モノクロタリンを用いた実験的肺傷害（間質性肺炎）モデルに対する小柴胡湯の修飾作用、及び同モデルへの小柴胡湯と IFN- $\alpha$ 併用投与による病変進行に対する相乗作用の有無を病理組織学的に検討した（C57BL/6 及び ICR）。また RT-PCR 法を用いてサイトカイン発現への影響を検討した。その結果、ICR マウスを用いた実験で小柴胡湯による肺傷害の増強作用を認めたので、本年度はその増強作用に関与すると考えられるサイトカイン発現の解析を行った。

## B. 研究方法

1) 被験物質及び動物：被験物質として小柴胡湯（当研究所生薬部関田らにより調製）、モノクロタリン（S. B. Penick Co., New York）、ヒト IFN- $\alpha$ （持田製薬）を用いた。動物は 4 週齢の雄性 CD-1/ICR: Crj マウス（SPF）を日本チャールス・リバー社（神奈川）より購入し、基礎飼料と水道水で 1 週間馴化飼育した後、各群に動物を無作為に振り分け試験に供した。

2) 実験方法：実験 1 として、ICR マウスを用いてモノクロタリンを 150mg/kg の割合で週 1 回、計 5 回皮下投与し、モノクロタリン投与開始時から 11 週ないし最終投与の 1 週間後から 6 週間、小柴胡湯を 0.1%ないし 2.0%の割合で各群 15-16 匹に混餌投与した（Figure 1）。次に実験 2 として、ICR マウスに対してモノクロタリンを 5 回投与後、6 週間にわたる 2.0%の小柴胡湯の混餌投与期間

中に IFN- $\alpha$ の隔日投与を行った。また、小柴胡湯の陰性対照も設けた（Figure 2）。これらの動物の肺について病理組織学的検索を行ったほか、実験 1 に関しては Mac-3（macrophage-specific antibody, PharMingen International）及び Monocyte chemoattractant protein-1（MCP-1, Santa Cruz Biotechnology, Inc.）の免疫組織学的検索を行った。さらに、実験 1 は溶媒対照群、モノクロタリン単独投与群、モノクロタリン+2.0%小柴胡湯 6 週間投与群及びモノクロタリン+2.0%小柴胡湯 11 週間投与群について、実験 2 は溶媒対照群及びモノクロタリン単独投与群について、病理組織学的に間質性肺炎の程度のグレーディングを行った結果をもとに、スコア値の高かった動物を各群 5 匹ずつ選択し、CytoExpress kit（Biosource）を用いて肺の Th1/Th2 細胞サイトカイン（IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, IFN- $\gamma$ ）、TNF シグナリング（NF- $\kappa$  B, LICE（Caspase 3）、TNF- $\alpha$ , bcl-2, I  $\kappa$  B）、炎症性サイトカイン（IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , TGF- $\alpha$ , GM-CSF）、GAPDH の mRNA シグナルを検索するとともに MCP-1 mRNA シグナルについても RT-PCR 法にて検索を行った。

## C. 研究結果

実験 1 では、昨年報告した通りモノクロタリン投与により II 型肺胞上皮の減少、残存上皮細胞の巨核化、肺胞壁の線維索性肥厚、肺胞腔内への線維素の析出（硝子膜形成）、肺胞腔内へのマクロファージの浸潤・集簇、血管周囲炎ないし血管炎の変化が認められた。各個体でこれらの病理所見のグレーディングを行い群間での程度の比較をしたところ、多くの所見において、モノクロタリンとともに 11 週間にわたり小柴胡湯を投与した群で肺傷害の程度が増強しており、0.1%群より 2.0%群でより明らかであった。また、肺胞壁の線維索性肥厚、肺胞腔内への線維素の析出

(硝子膜形成)，肺胸腔内へのマクロファージの浸潤・集簇の所見を間質性肺炎の所見とし，総合的にグレーディングを行った結果も同様であった(Table 1)。免疫組織学的検索の結果，Mac-3 抗体で検出されるマクロファージ数はモノクロタリン単独投与群に比較して，肺傷害の強い，モノクロタリン+小柴胡湯 11 週間投与群に多くなる傾向が認められた(Figure 3)。MCP-1 の発現は浸出マクロファージ，肺胞上皮及び血管平滑筋に認められ，MCP-1 immunostaining score の高い動物で Mac-3 陽性マクロファージ数が多く，モノクロタリン+2.0%小柴胡湯 11 週間投与群で MCP-1 陽性細胞の出現も多くなる傾向を認めた(Figure 3)。さらに，これらの動物の肺での Th1/Th2 細胞サイトカイン，TNF シグナリング，炎症性サイトカイン，MCP-1 などの mRNA シグナルを検索した結果，肺傷害の強い例で IL-1  $\beta$ ，TNF- $\alpha$ ，MCP-1 及び NF- $\kappa$  B mRNA の発現が増加したが，群間では発現パターンに差は認められなかった(Figure 4)。

実験 2 においては，モノクロタリン投与の後 IFN- $\alpha$  を投与した動物では肺傷害部位に一致して強いリンパ球浸潤を認めたものの，肺傷害に対する明らかな増強効果を認めず，小柴胡湯との相乗作用は認められなかった。また，小柴胡湯 6 週間投与による影響も実験 1 とほぼ同様に明らかではなかった(Table 2)。これらの動物の肺での各種サイトカイン mRNA シグナルを検索した結果，モノクロタリン単独投与群の TNF シグナリング及び炎症性サイトカインの値は溶媒対照群に比較して小さかった。

#### D. 考察

T リンパ球は免疫応答の主役であり，特にヘルパーT(Th)細胞が重要である。遅延型過敏症反応に代表される「細胞性免疫」と抗体産生に代表される「体液性免疫」とは，生体において相反する関係にあることが以前より

指摘されてきているが，その後，サイトカイン産生から見た 2 種類の Th 細胞サブセット(Th1/Th2)により説明されるようになってきた。

小柴胡湯は慢性肝炎による肝機能障害等に使用される生薬製剤であるが，この処方患者での間質性肺炎の誘発が問題となり，平成 12 年，肝硬変，肝癌患者における使用が禁止された。これらの患者においては，小柴胡湯が何らかの形で各種サイトカインの発現状況を変えて間質性肺炎に至らしめる可能性が指摘されている<sup>3)</sup>。

マウスを用いたモノクロタリン誘発肺傷害モデルは，頻回投与終了後一定の潜伏期間を経て間質性肺傷害を主体とした病変を誘発し，慢性経過により線維化に至らしめるモデルである<sup>4)</sup>。モノクロタリンにより誘発される肺傷害に対しては免疫反応の関与が示唆される。例えば，1)モノクロタリン投与によるラット肺での MCP-1 活性の上昇(ラットでは血管内皮傷害が主である)，2)Th1 dominant である C57BL/6 マウスはモノクロタリン誘発肺傷害に対して比較的耐性であること<sup>5)</sup>，また今回の検索により 3)傷害に血管炎の介在していること(新知見)，4)傷害の強い例で MCP-1 をはじめ数種類のサイトカインの発現増強を認めたこと，等が示される。

今回の検索では，モノクロタリンの 5 週間皮下投与(1 回/週)と小柴胡湯の 11 週間混餌投与を同時に開始した群で，モノクロタリン単独投与群に比較して病理組織学的に肺傷害の程度が増強し，免疫組織学的に Mac-3 陽性マクロファージ及び MCP-1 陽性細胞の出現率に増強傾向を認めた。一方，各種サイトカイン mRNA の発現解析においては肺傷害の強い例で MCP-1 をはじめ数種類のサイトカインの発現増強が認められたものの，小柴胡湯投与に特異的なサイトカインの誘導性は証明できなかった。今回のサイトカインの発現解析は，モノクロタリン投与各群で肺傷害

の明らかな症例を選択したにもかかわらず、病変程度の弱い例（多巣性の病変からなる）では明らかなサイトカインの誘導性を示さなかった。モノクロタリン誘発肺傷害が、このような小病変から急性転帰をたどって全葉性の肺傷害に進展してゆく過程を考慮すると、このモデルでは病理組織学的に強い修飾作用を示す場合でのみ、サイトカイン mRNA 発現の変動を検出できるものと考えられた。

本研究で用いたモノクロタリンの 150mg/kg を 5 回投与する実験モデルは投与終了後 6 週間後で発症するように設定したモデルであるが、サイトカインの発現を含めた小柴胡湯と IFN- $\alpha$  の修飾作用を検討するためには、モノクロタリンの投与条件をより弱く設定しモノクロタリン投与終了後発症までの期間を延長させ、小柴胡湯ないし IFN- $\alpha$  の投与期間を長期化する工夫が必要であると考えられた。

#### E. 結論

生薬である小柴胡湯の間質性肺炎誘発性ないし修飾作用を検討する目的で、Th1, Th2 どちらも反応することが知られている ICR マウスを用いてモノクロタリン誘発肺傷害に対する小柴胡湯の修飾作用を検討した結果、モノクロタリン+小柴胡湯 11 週間投与群において、モノクロタリン単独群と比較して病理組織学的に肺傷害の程度が増強し、免疫組織学的にも病変部位で Mac-3 陽性マクロファージ及び MCP-1 陽性細胞の出現に増強傾向を認めた。小柴胡湯の肺組織でのサイトカイン発現への影響に関しては、発現パターンの明らかな変化は認められなかった。小柴胡湯と IFN- $\alpha$  との併用では肺病変部位に一致して強いリンパ球浸潤を認めたものの、小柴胡湯による肺傷害の増強作用は認められなかった。

以上の結果、小柴胡湯の長期間投与により血管周囲炎及び血管炎の程度が増強し、また Mac-3 陽性マクロファージと同様 MCP-1 陽

性細胞の出現に増強傾向を認めたことから、小柴胡湯投与はモノクロタリン誘発肺傷害発生を早める何らかの免疫学的バックグラウンドの変調に関与することが予測された。

参考文献： a) 厚生省医薬品副作用情報 (1991) No.107; b) 村上和憲ら (1995) 日胸疾会誌, 33, 389-393; c) Hayashi et al. (1995) Toxicol Pathol, 23, 63-71; d) Deyo et al. (1994) Toxicology 94, 209-222.

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

特になし。

##### 2. 学会発表

仁保直子, 渋谷淳, 畝山智香子, 榎富直哉, 中川恵子, 高橋則行, 小林恒雄, 関田節子, 広瀬雅雄: モノクロタリン誘発マウス肺傷害モデルに対する小柴胡湯と IFN- $\alpha$  の修飾作用の検討. 第 17 回日本毒性病理学会 (2001 年 1 月)

#### G. 知的所有権の取得状況

特になし。

# Experiment 1

## Effect of Sho-saiko-to on the monocrotaline-induced lung injury in ICR mice.

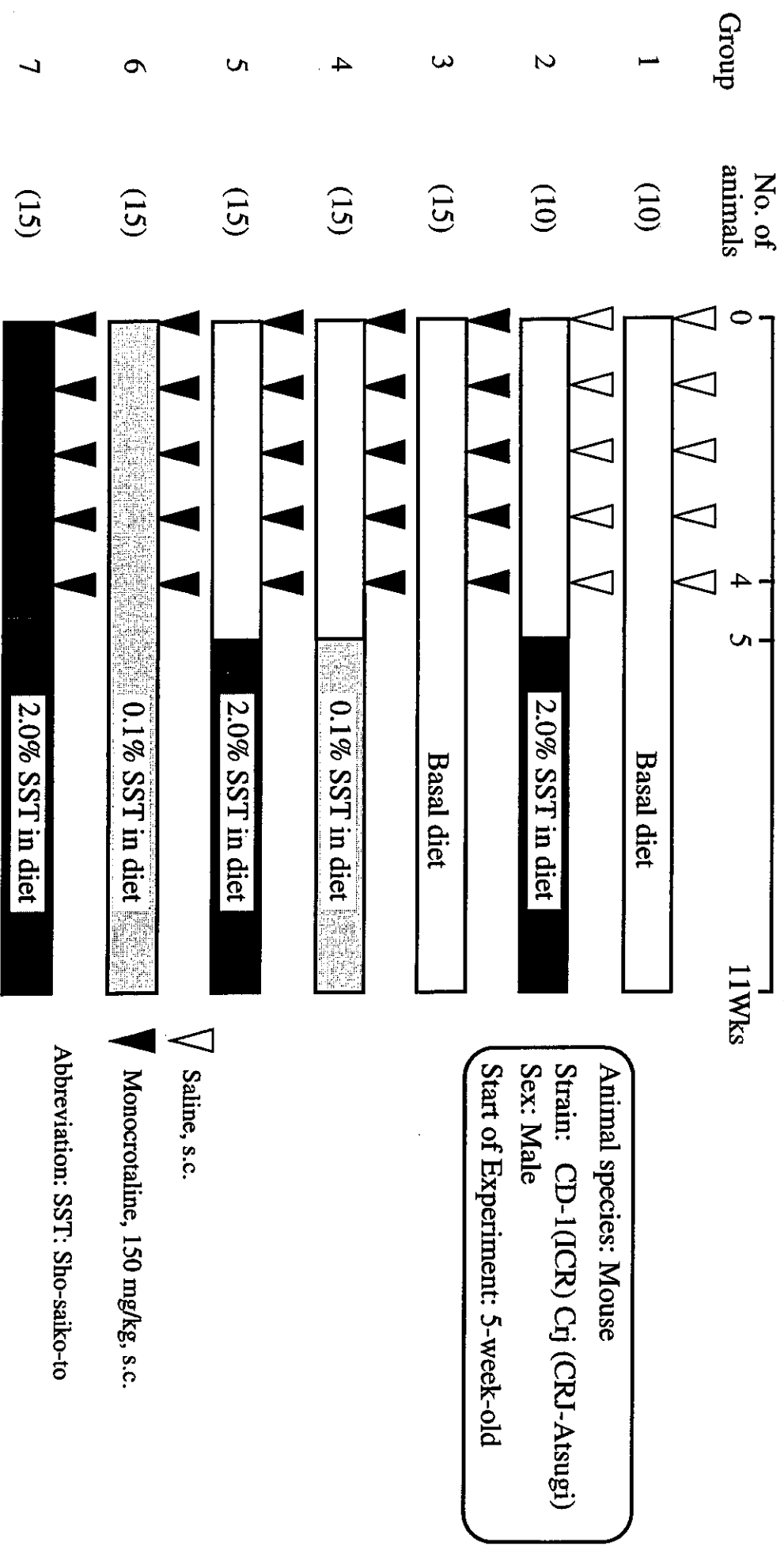


Figure 1

## Experiment 2

Synergistic effect of Sho-saiko-to and interferone- $\alpha$  on the monocrotaline-induced lung injury in ICR mice.

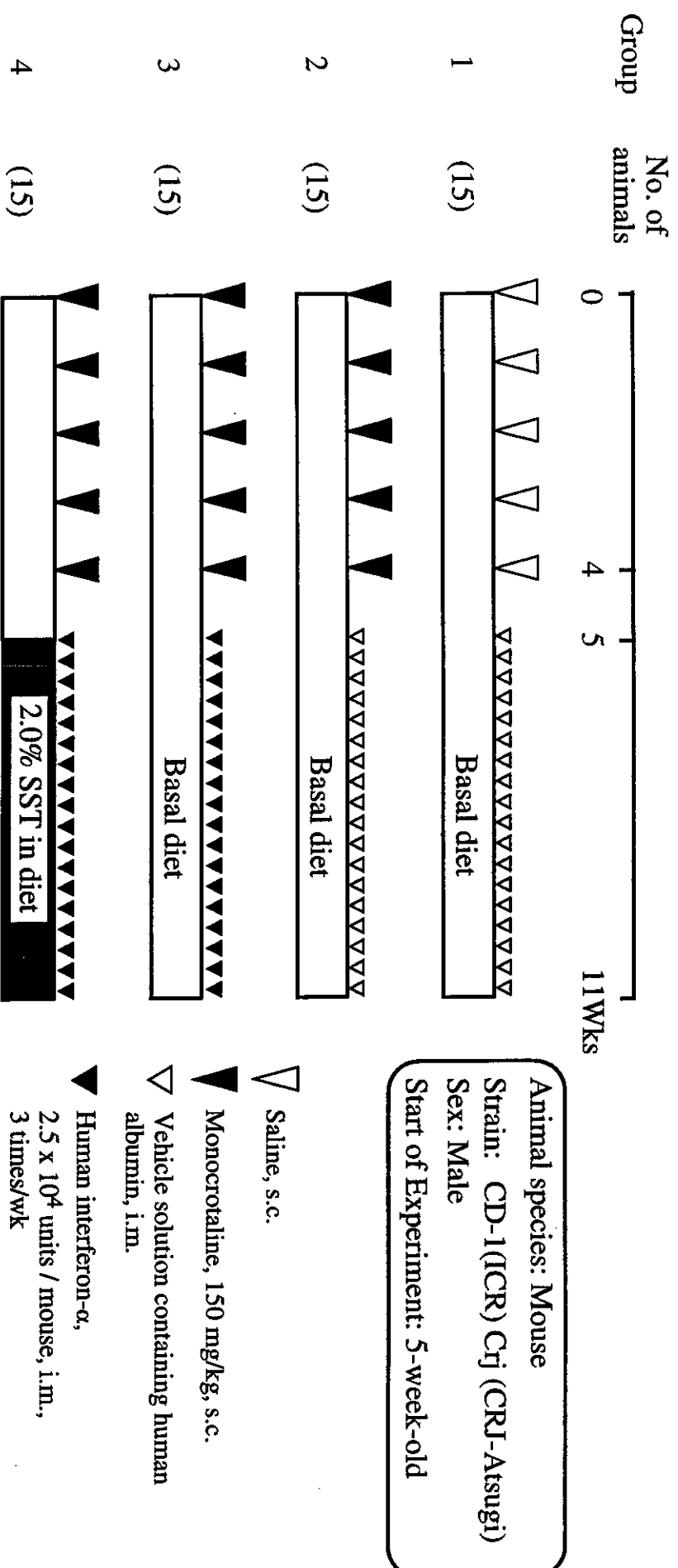


Figure 2

Mac-3 陽性マクロファージの

MCP-1 免疫組織学的検索

出現率の比較

比較した群：

- ・ 無処置対照群 (MCT(-), SST(-))
- ・ MCT単独群
- ・ MCT+2.0% SST(11wks)投与群

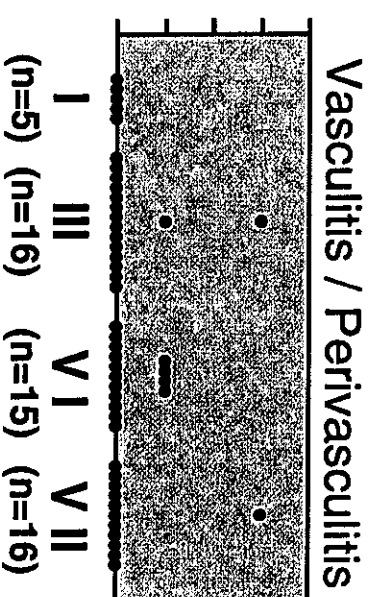
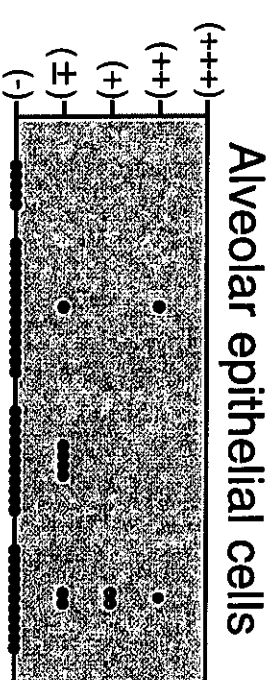
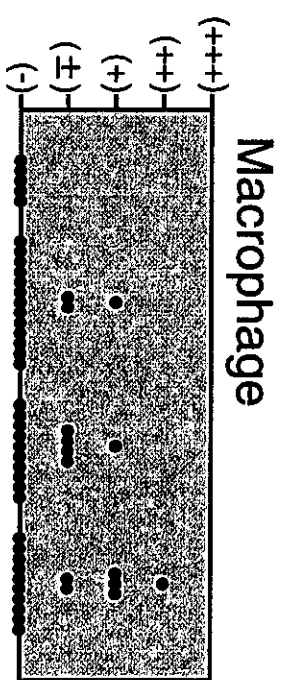
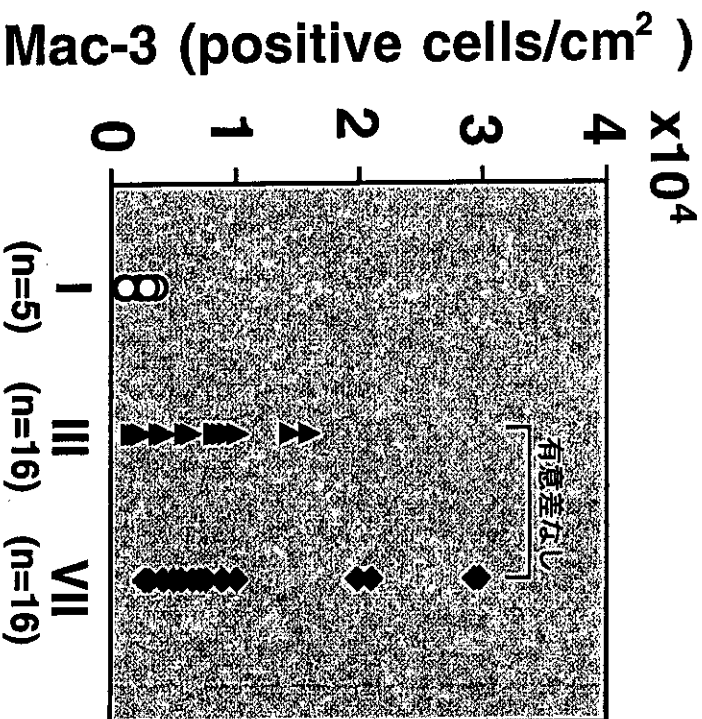


Figure 3



各種サイトカイン mRNA の個体間での比較 (n=5)

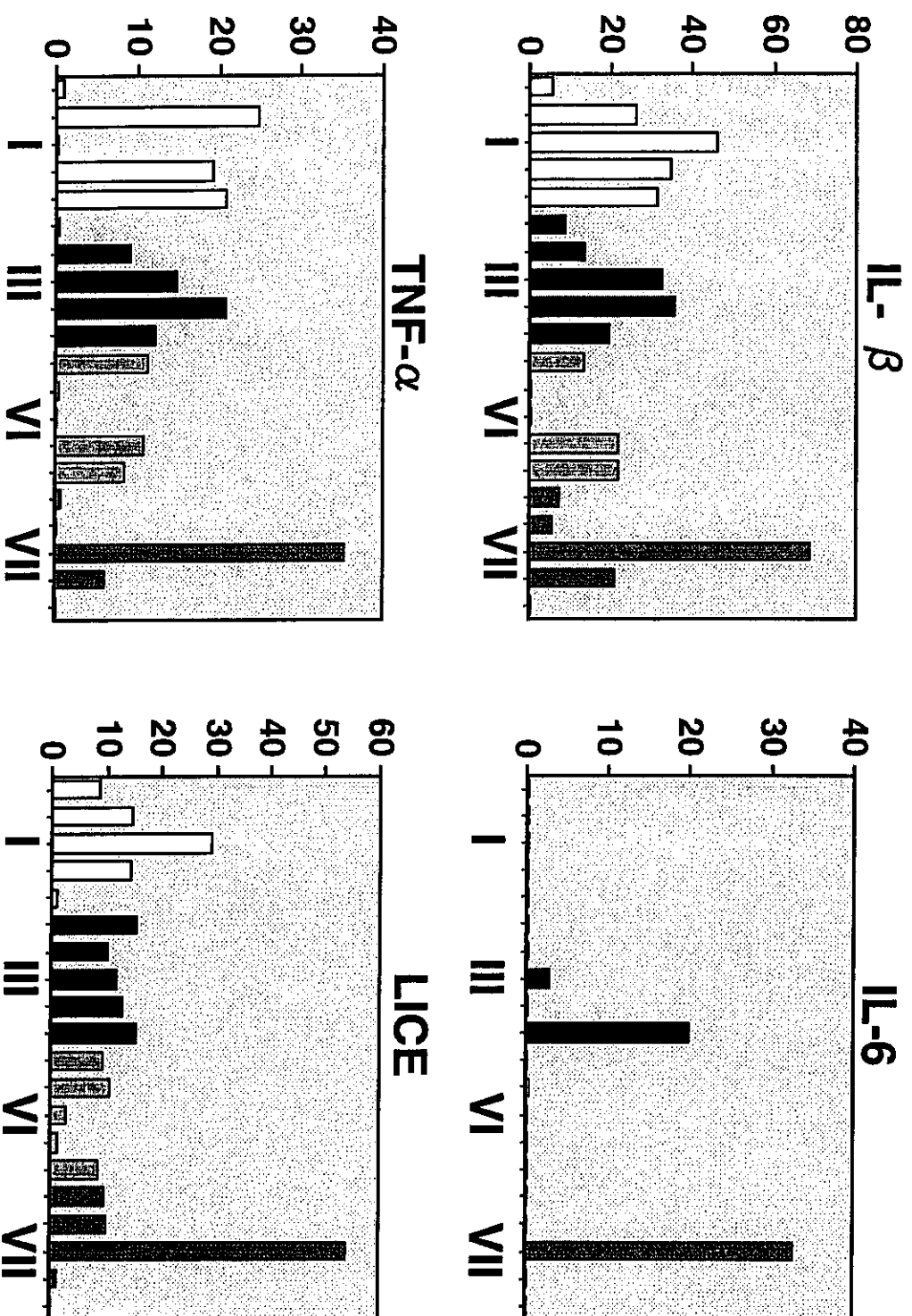


Figure 4

Table 1. Effect of Sho-saiko-to on the monocrotaline-induced lung injury in ICR mice.

Finding	Group		Animals on Study						
	Animals Examined	1	2	3	4	5	6	7	
Neutrophil infiltration, alveolar walls	(Total)	0	0	4	1	3	5	4	
	(±)	0	0	3	1	3	3	1	
	(+)	0	0	0	0	0	2	2	
	(++)	0	0	1	0	0	0	1	
Lymphocyte infiltration, alveolar walls	(Total)	0	0	2	5	4	8*	8*	
	(±)	0	0	1	4	4	6	5	
	(+)	0	0	0	1	0	2	3	
	(++)	0	0	1	0	0	0	0	
Megakaryosis, type II pneumocytes	(Total)	0	0	16	15	16	15	16*	
	(±)	0	0	9	10	10	5	4	
	(+)	0	0	7	5	6	9	7	
	(++)	0	0	0	0	0	1	5	
Reduction of alveolar epithelial cells	(Total)	0	0	16	15	16*	15*	16**	
	(±)	0	0	5	2	1	2	0	
	(+)	0	0	10	10	8	4	3	
	(++)	0	0	1	3	7	8	11	
Fibrinous thickening, alveolar walls	(Total)	0	0	4	8	5	10*	11*	
	(±)	0	0	1	4	5	2	5	
	(+)	0	0	2	4	0	6	2	
	(++)	0	0	1	0	0	1	2	
(+++)	0	0	0	0	0	1	2		

Table 1. (continued)

Finding	Group		1	2	3	4	5	6	7
	Animals on Study	Animals Examined							
Fibrinous exudation, alveolar space	(Total)	0	0	0	4	7	6	12**	12**
	(±)	0	0	0	1	3	6	6	6
	(+)	0	0	0	2	4	0	4	3
	(++)	0	0	0	1	0	0	1	1
Neutrophil infiltration, alveolar space	(Total)	0	0	0	2	0	0	0	2
	(±)	0	0	0	1	0	0	0	2
	(+)	0	0	0	1	0	0	0	0
	(Total)	0	0	0	2	3	0	2	2
Lymphocyte infiltration, alveolar space	(Total)	0	0	0	1	1	0	2	2
	(±)	0	0	0	1	2	0	2	2
	(+)	0	0	0	1	1	0	0	0
	(Total)	1	0	0	8	9	9	12	16**
Macrophage infiltration, alveolar space	(Total)	1	0	0	4	3	5	2	7
	(±)	1	0	0	2	3	3	7	4
	(++)	0	0	0	1	3	1	2	3
	(+++)	0	0	0	1	0	0	1	2
Perivascularitis	(Total)	2	0	0	15	15	13	15*	16**
	(±)	2	0	0	10	6	6	5	3
	(+)	0	0	0	4	8	5	3	8
	(++)	0	0	0	0	1	2	6	3
	(+++)	0	0	0	1	0	0	1	2

Table 1. (continued)

Finding	Group		1	2	3	4	5	6	7
	Animals on Study	Animals Examined							
Vasculitis	(Total)	0	0	0	3	3	5	8	7
	(±)	0	0	2	1	2	2	2	0
	(+)	0	0	1	2	2	2	4	2
	(++)	0	0	0	0	1	1	1	5
	(+++)	0	0	0	0	0	0	1	0
	(Total)	0	0	9	11	10	13**	16**	
	(±)	0	0	6	5	7	3	7	
	(+)	0	0	2	4	3	6	5	
	(++)	0	0	0	2	0	3	3	1
	(+++)	0	0	1	0	0	1	1	3

\*, \*\*: Statistically different from group 3 (\* p < 0.05, \*\* p < 0.01)