

熊本大学薬学研究部

(分担研究者：磯濱 洋一郎)

千葉大学 (分担研究者：巽 浩一郎)

呼吸器内科

篠塚 成順、山川 みどり

中村 晃、寺田 二郎

聖隷浜松病院

富田 和宏、中村 秀範

日産厚生会玉川病院

長 晃平、森田 瑞生、

久次米 公誠

聖隷横浜病院

永川 博康

松戸市立病院

森谷 哲郎、玉置 正勝

宇都宮東病院

加藤 士郎

### C. 研究結果

SGRQ の symptom score に関して、補中益気湯投与群では有意な改善を認めた (図 12)。漢方医学的な気虚の概念である、「身体のだるさ」、「気力」、「疲れやすさ」、「食欲」いずれの項目においても Control 群では改善を認めなかったが、補中益気湯群で有意な症状の改善を認めた (図 13～16)。また、感冒回数および急性増悪

回数は補中益気湯群で有意に低値であった (図 17、18)。

体重は、補中益気湯群、Control 群とも 6 ヶ月にて有意な変化はみられなかった (図 19)。試験開始前のすべての COPD 症例を対象とすると、栄養指標であるプレアルブミン値と BMI 値には正の相関関係を認めた (図 20)。プレアルブミン値は、補中益気湯投与群でのみ有意な増加を認めた (図 21)。栄養指標であり、脂肪細胞由来と考えられるレプチンと BMI 値の間にも、正の相関関係を認めた (図 22)。しかし、レプチンの値は、補中益気湯投与後に有意な変化は認めなかった ( $P=0.06$ ) (図 23)。

全身の炎症指標である血清の高感度 CRP (図 24)、TNF- $\alpha$  (図 25)、IL-6 (図 26) と COPD の重症度を表す %FEV<sub>1</sub> predicted (%予測一秒量) との間には、いずれも負の相関関係を認めた。補中益気湯群で高感度 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 は有意な低下を認めた (図 27～29)。

脂肪細胞から分泌され動脈硬化の進展にも関与するとされているアディポネクチン値は、BMI 値と負の相関関係があり (図 30)、補中益気湯投与にて有意な増加を認めた (図 31)。

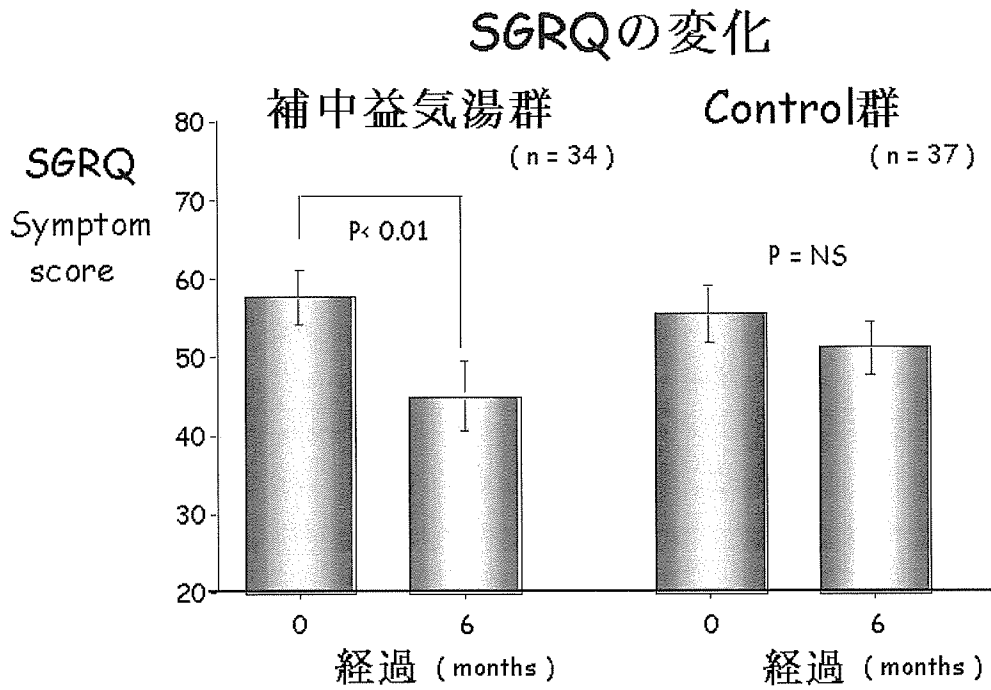


図 12. SGRQ symptom score の変化

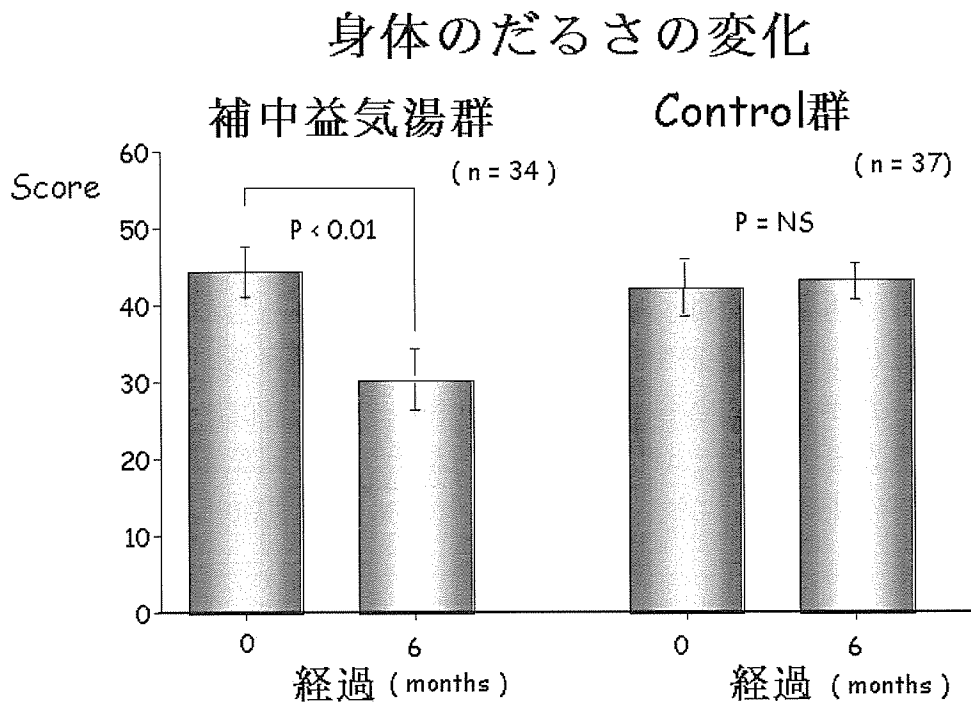


図 13. 気虚スコア「身体のだるさ」の変化

## 気力の変化

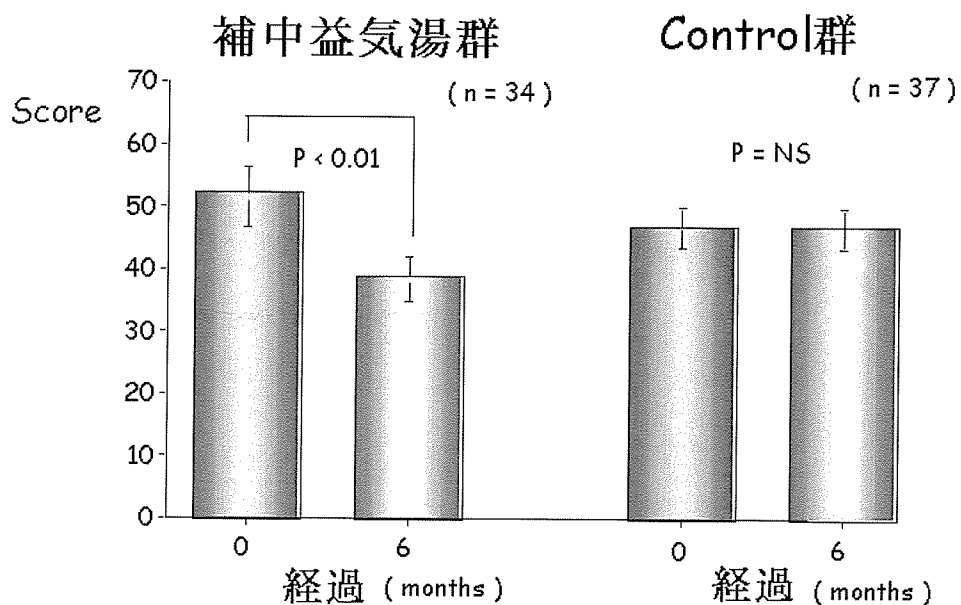


図 14. 気虚スコア「気力」の変化

## 疲れやすさの変化

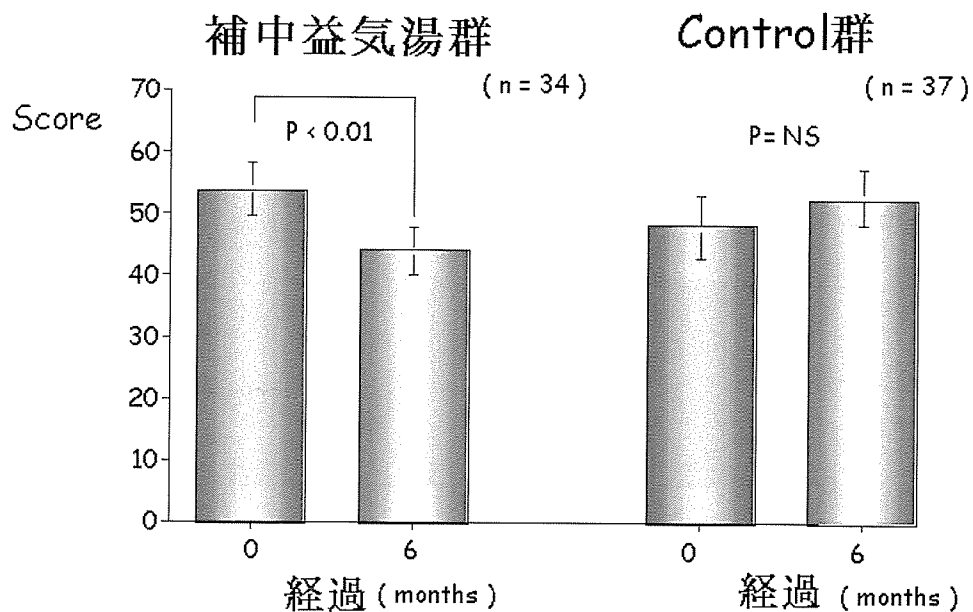


図 15. 気虚スコア「疲れやすさ」の変化

## 食欲の変化

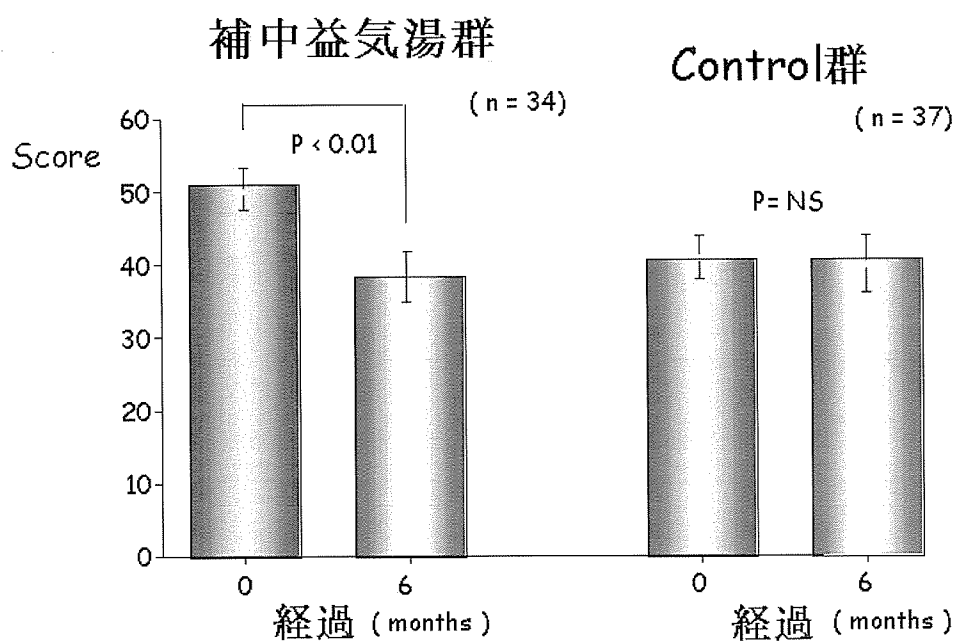


図 16. 気虚スコア「食欲」の変化

## 感冒回数

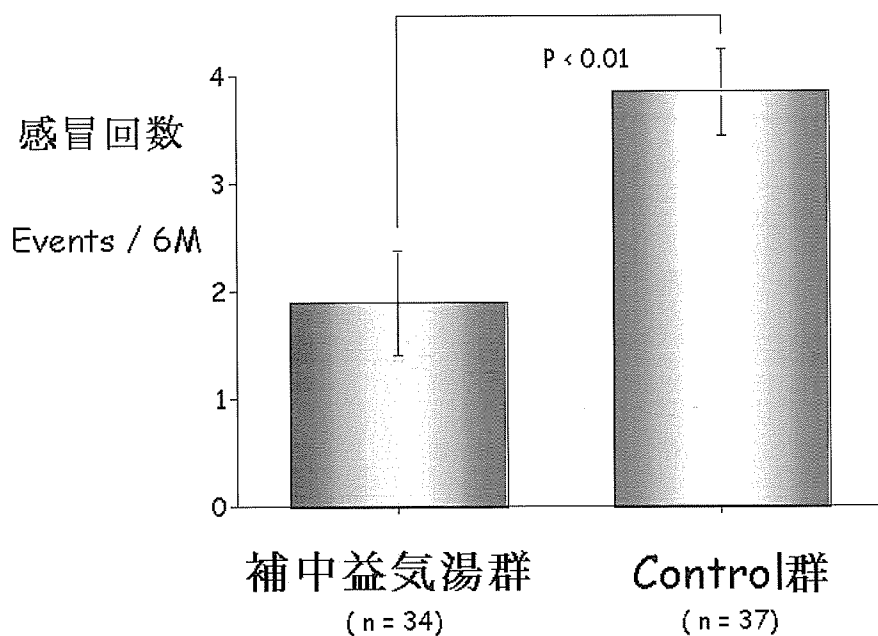


図 17. 感冒の回数

## 増悪回数

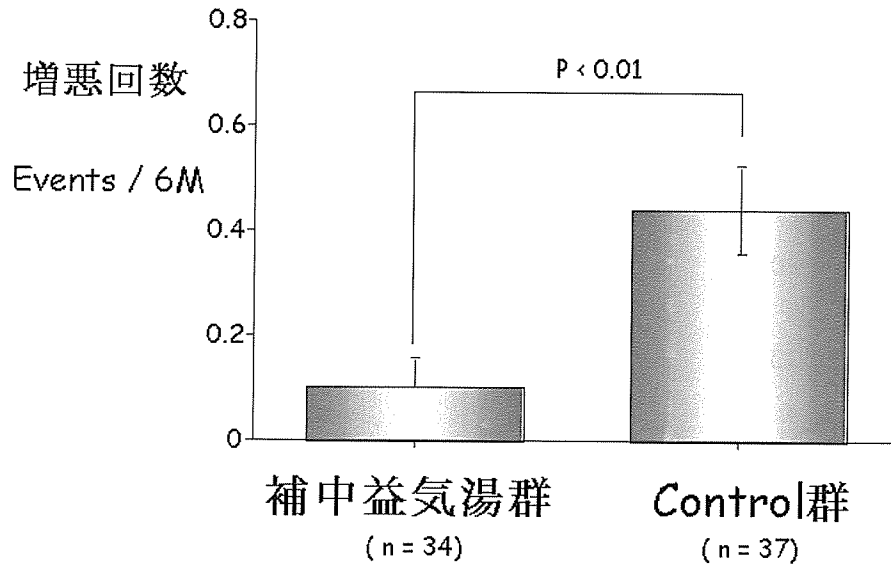


図 18. 急性増悪の回数

## 体重の変化

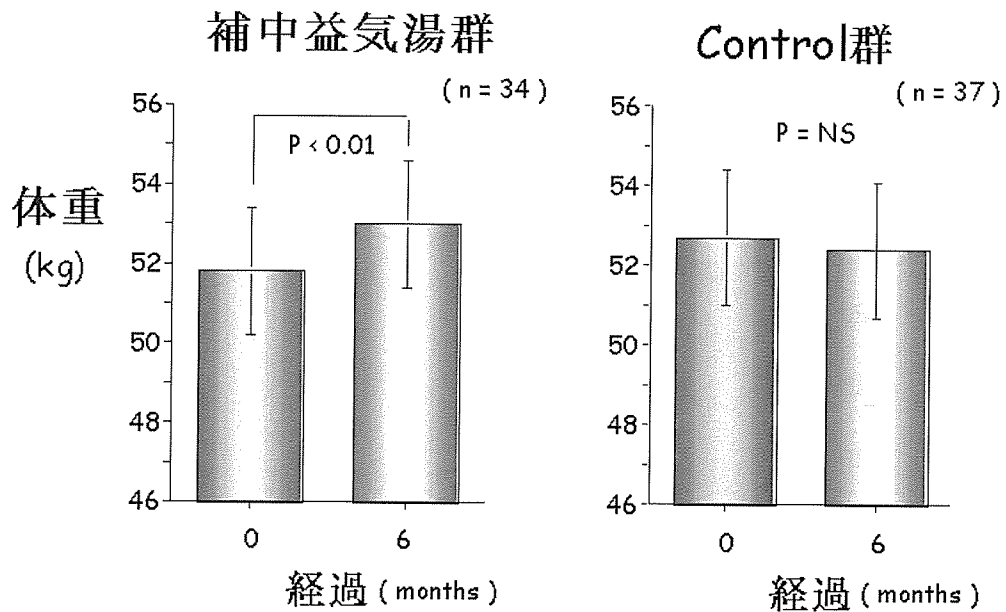


図 19. 体重の変化

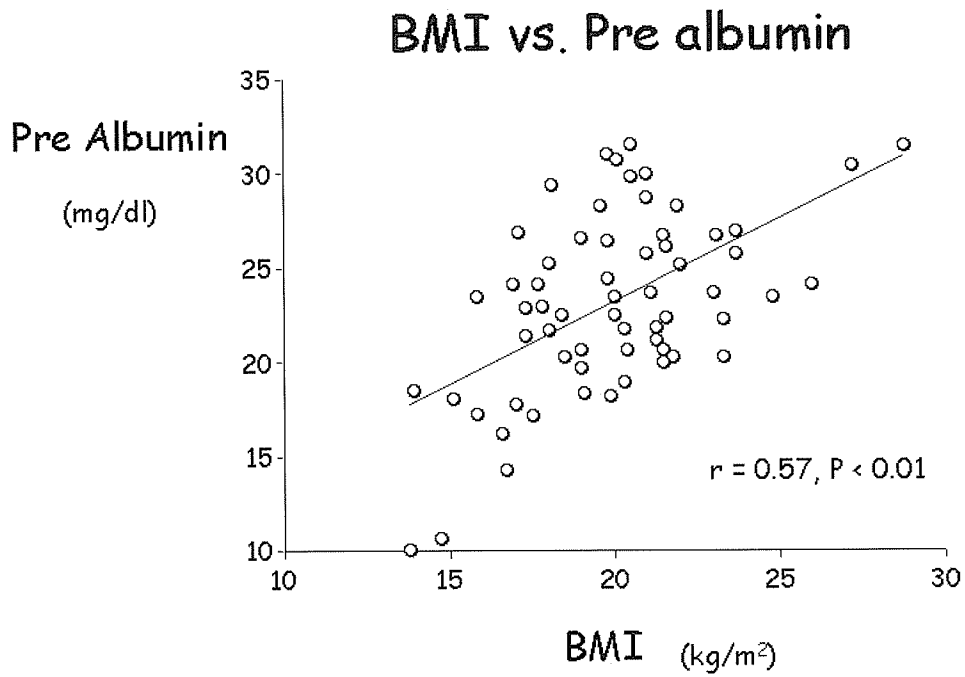


図 20. 症例全体でのプレアルブミン値と BMI の関係

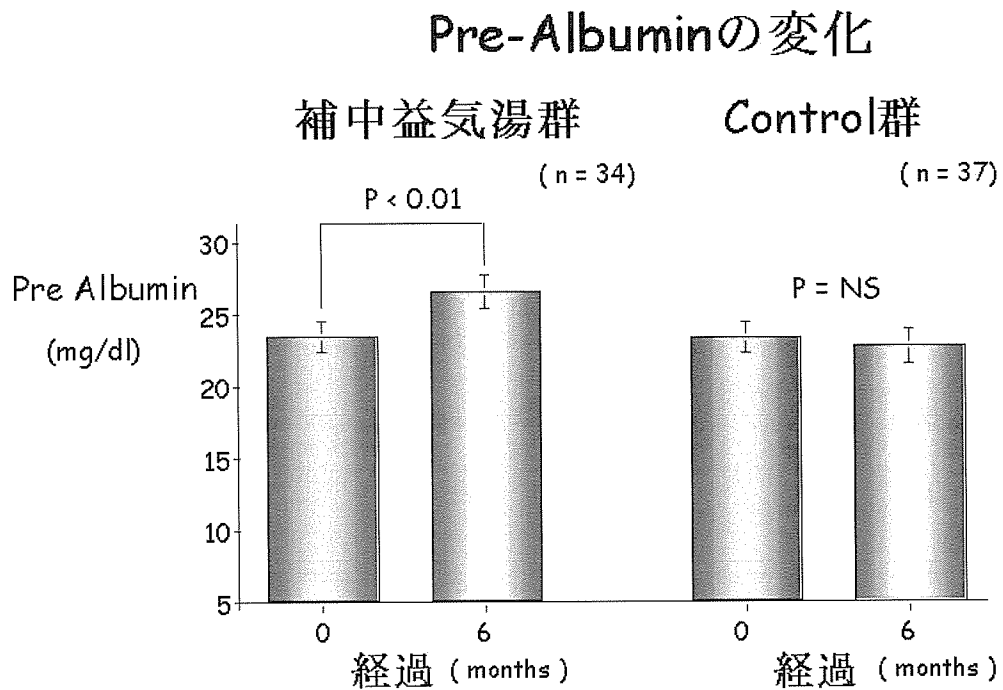


図 21. 補中益気湯投与によるプレアルブミン値の変化

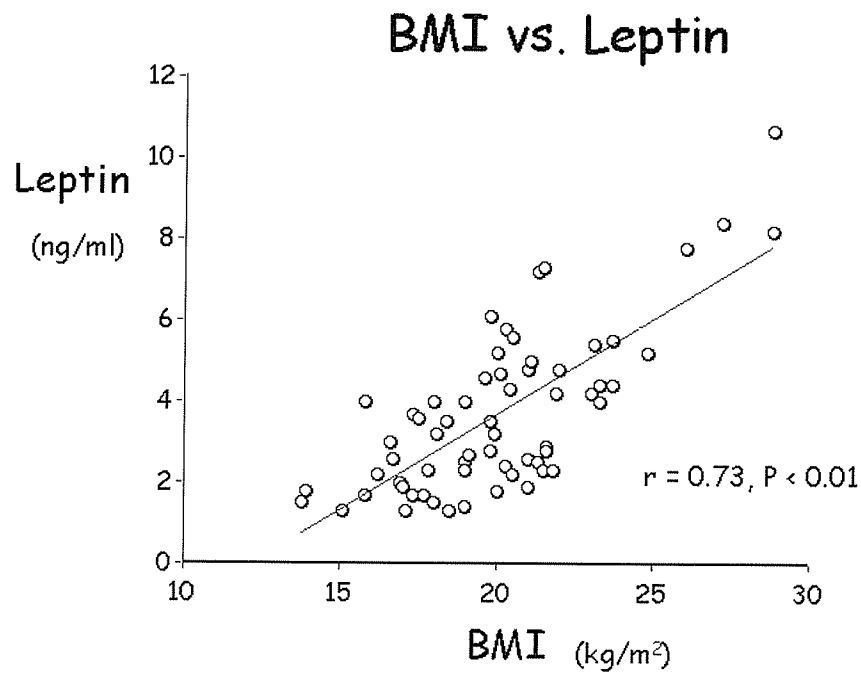


図 22. 症例全体でのレプチン値と BMI の関係

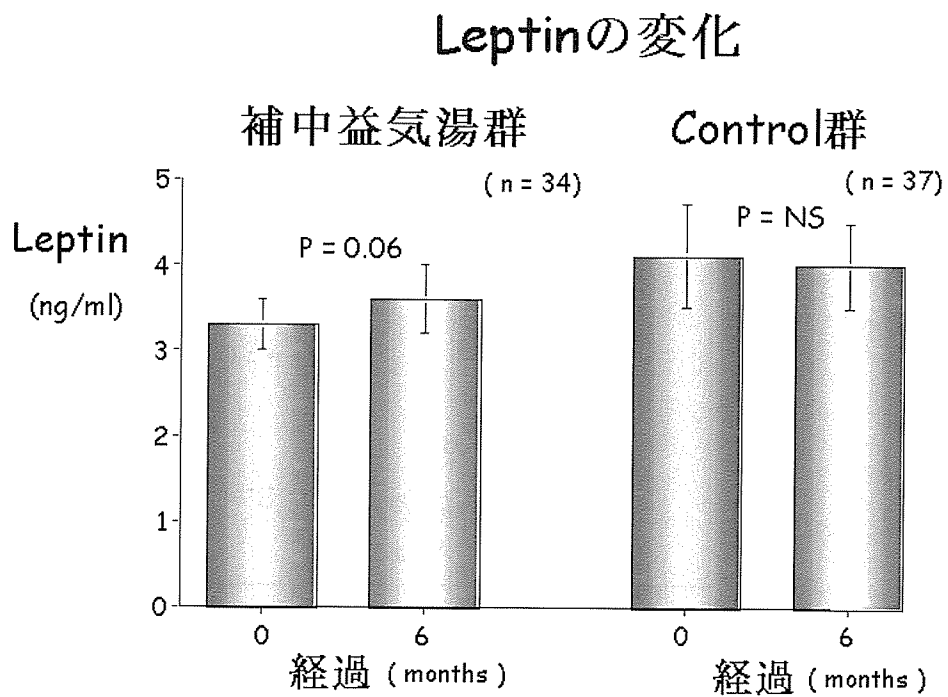


図 23. 補中益気湯投与によるレプチン値の変化

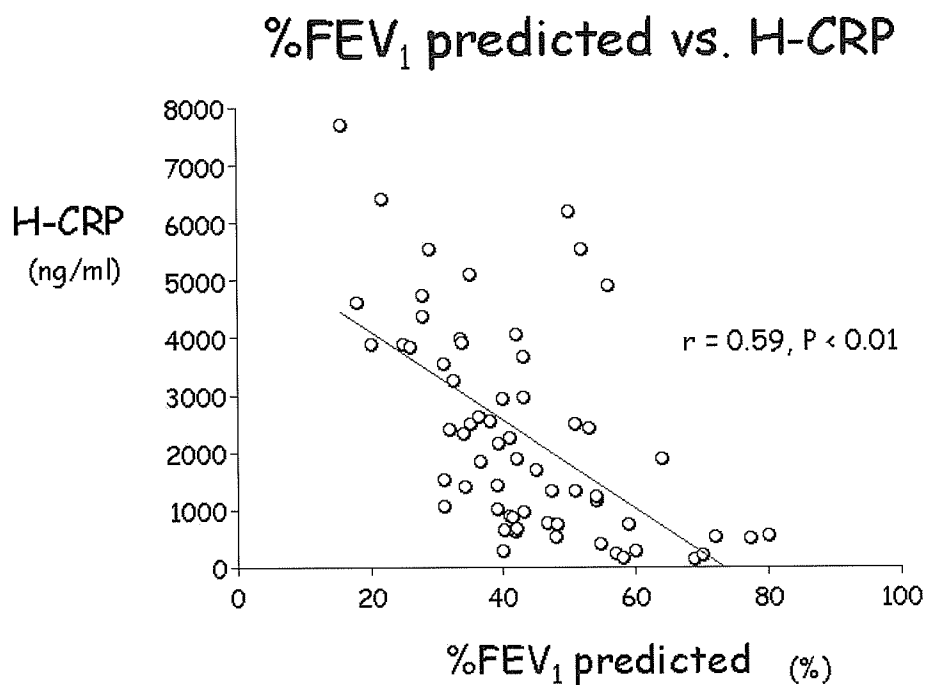


図 24. %予測一秒量と高感度 CRP の関係

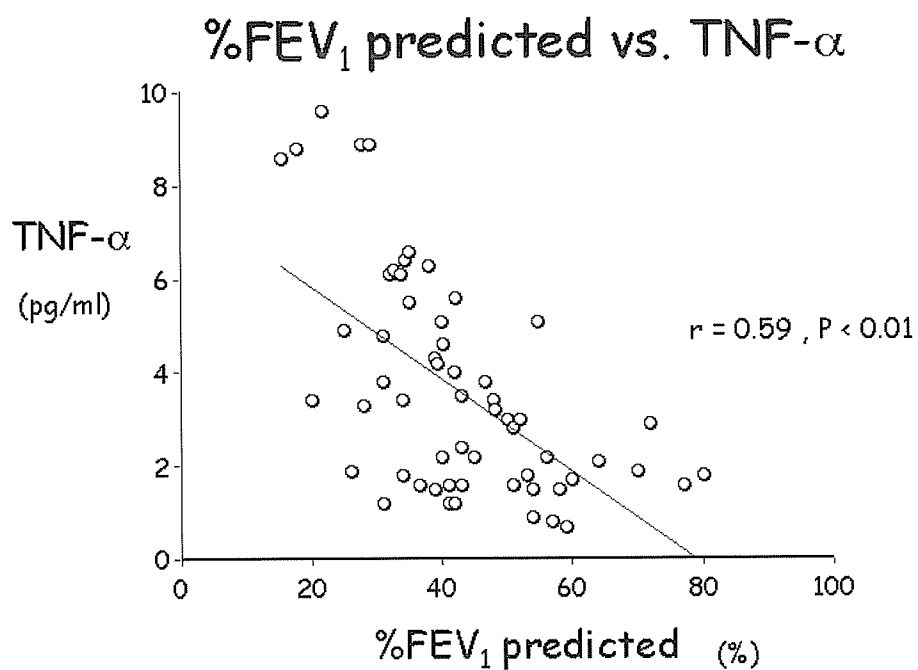


図 25. %予測一秒量と TNF- $\alpha$  の関係



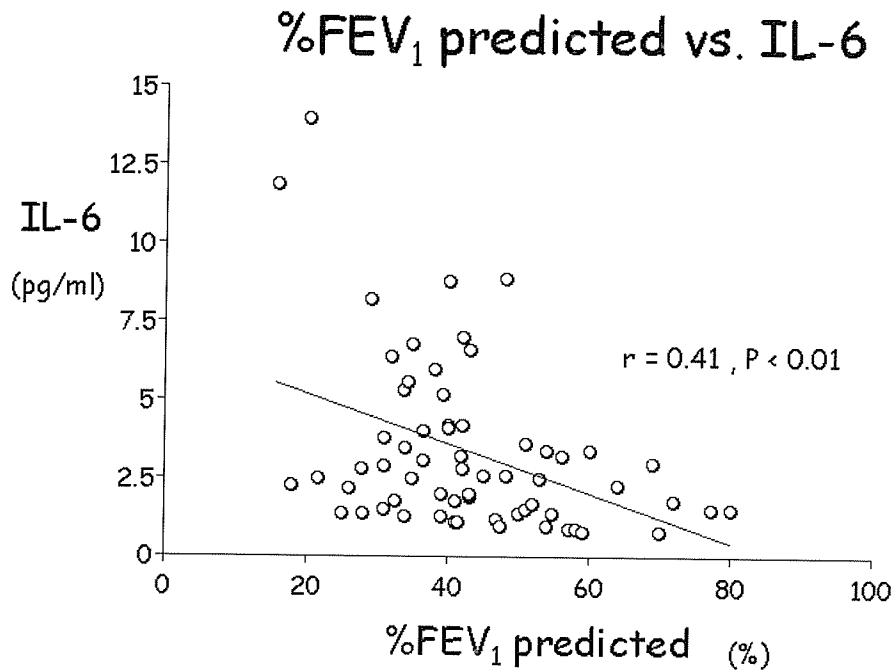


図 26. %予測一秒量と IL-6 の関係

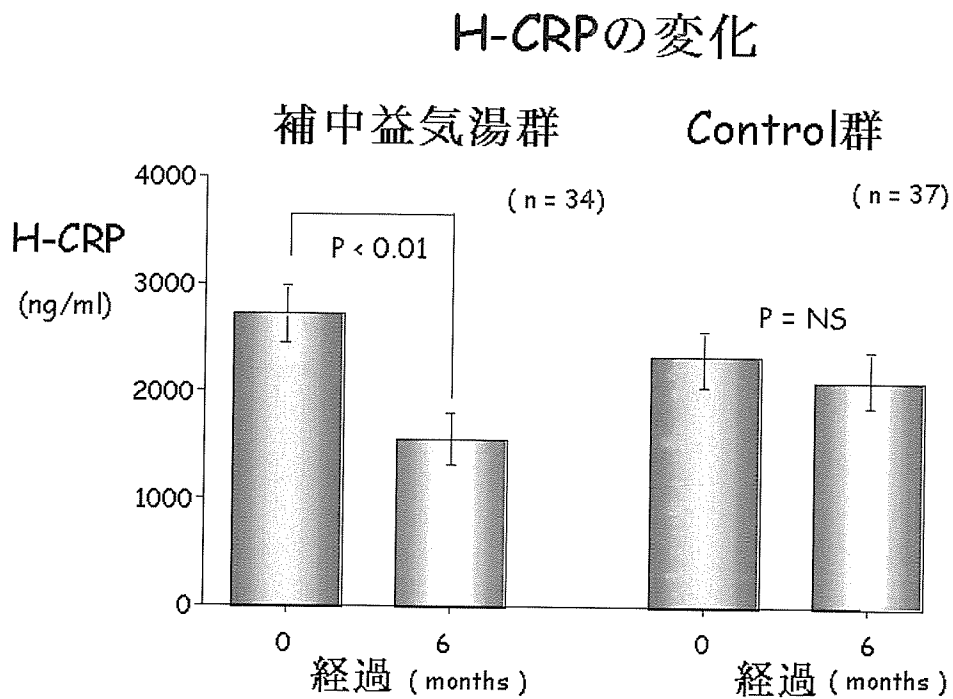


図 27. 補中益気湯投与による高感度 CRP の変化

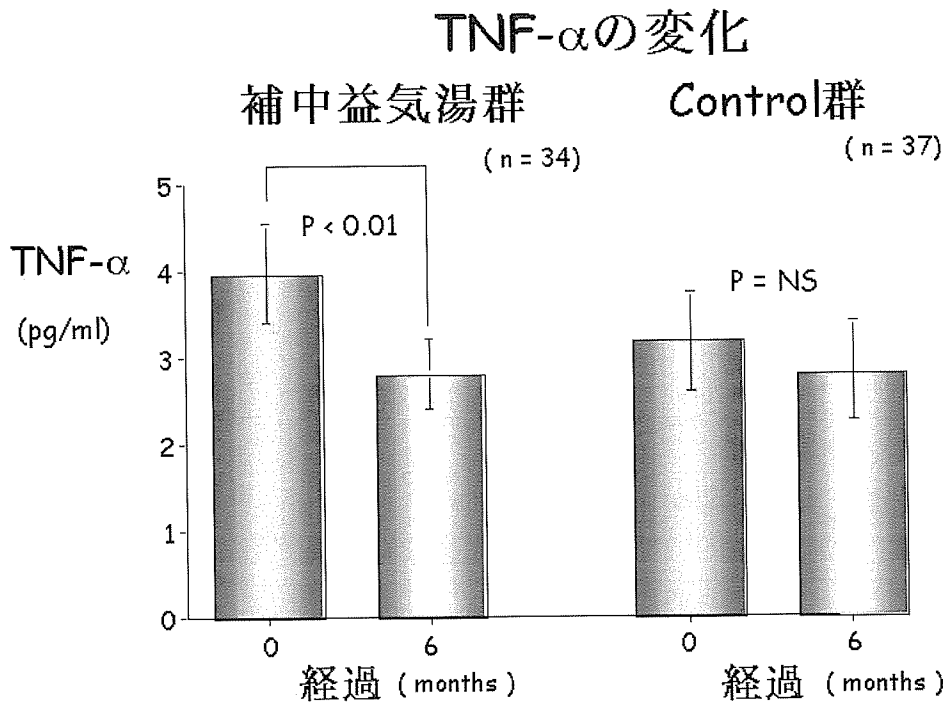


図 28. 補中益気湯投与による TNF- $\alpha$  の変化

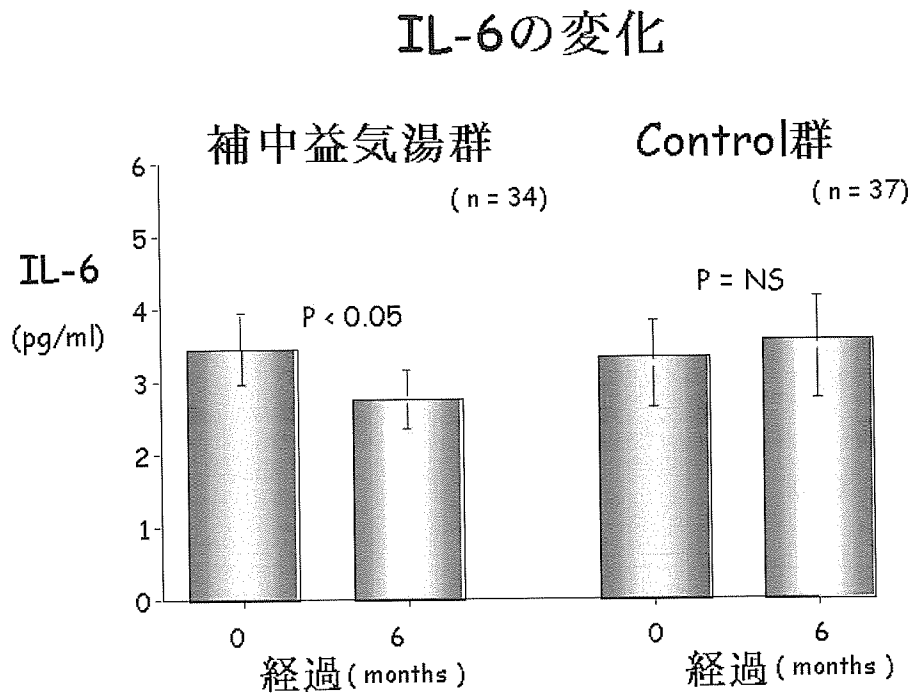


図 29. 補中益気湯投与による IL-6 の変化

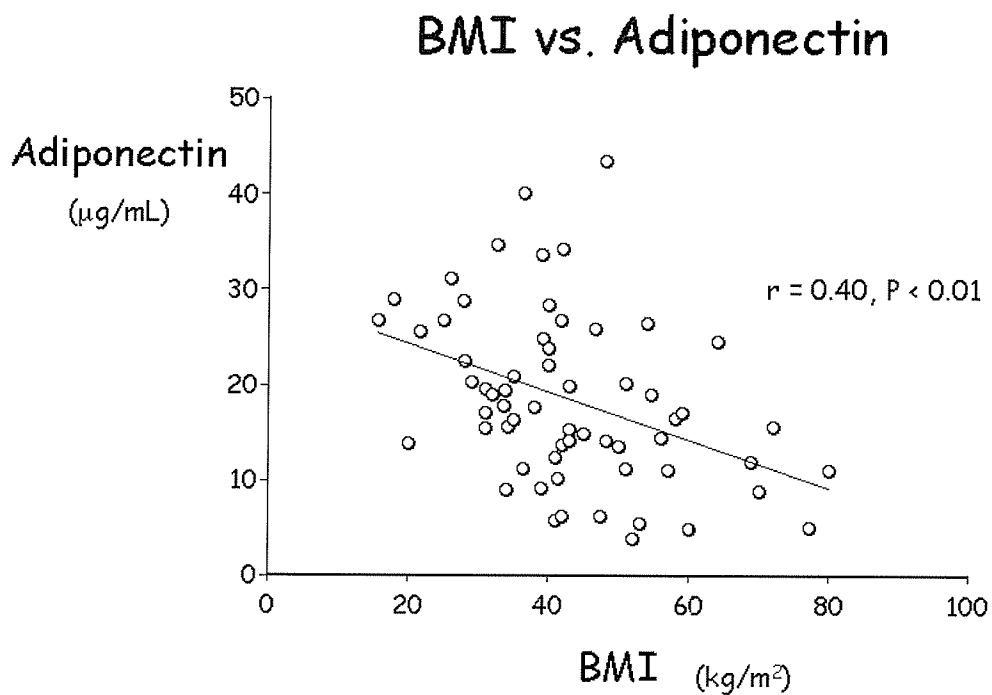


図 30. 症例全体でのアディポネクチン値と BMI の関係

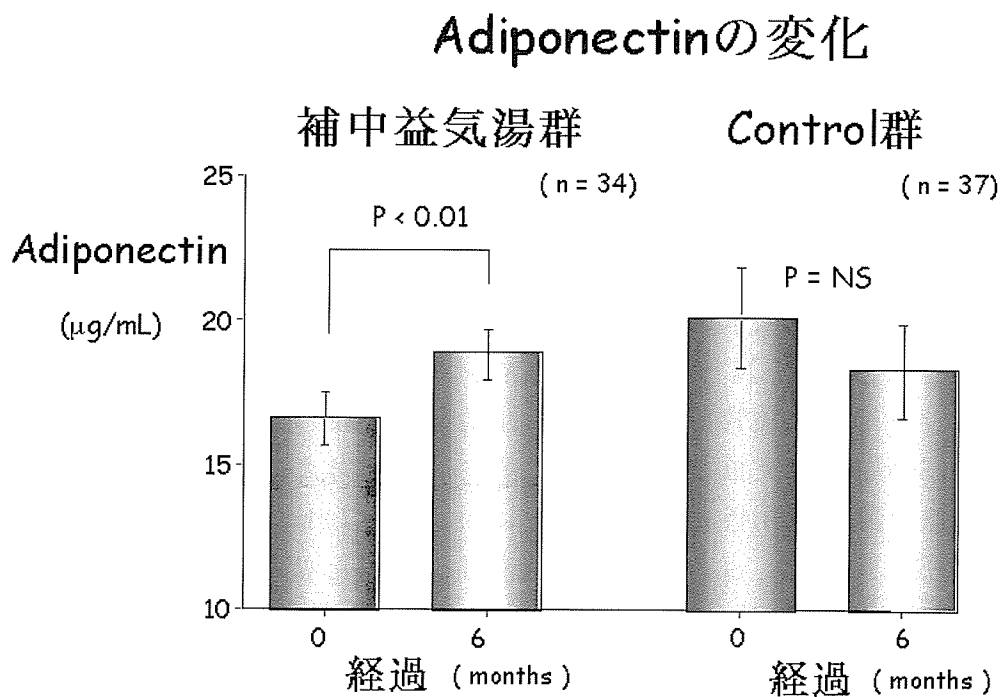


図 31. 補中益気湯投与によるアディポネクチン値の変化

COPD の病態評価、補中益気湯の作用機序に関する基礎研究の結果は、各分担研究報告書の中に記載した。

#### D. 考察

COPD は労作時呼吸困難を主訴とする慢性呼吸器疾患であり、発症・経過は緩徐である。しかし、急性増悪後に肺機能の低下を起こすことから、急性増悪の頻度を減らすことは重要である。急性増悪の原因/誘因は様々であるが、その主な原因/誘因とされる感冒や気道感染を予防することは、患者 QOL の改善だけでなく、肺機能の温存にも寄与するものと考えられる。

COPDは呼吸器系のみが障害される病態ではなく、全身性の炎症性疾患であるという観点から、COPDの生命予後を判定する指標としてBODE indexが提唱され、なかでも体重減少は気流制限とは独立した予後因子で、BMI低下群で予後不良となる傾向が指摘されている (Celli BR, et al. N Engl J Med. 2004; 350: 1005-12.)。従来、気流制限の改善に対する薬物療法として、長時間作動型気管支拡張剤薬を含む気管支拡張薬の有用性には数多くの報告がある (Celli B, et al. Chest. 2003; 124: 1743-1748., O'Donnell, et al. Eur Respir J, 2004; 24: 86-94.)。一方、COPDの体重減少/栄養障害に対してはGOLDや日本呼吸器学会のガイドラ

インで栄養療法の必要性が指摘されているものの、これまでのところ薬物治療・非薬物治療のエビデンスは確立されていない。

漢方方剤には「補剤」と呼ばれ、現代西洋医薬にはない免疫機能回復作用を有する薬剤が存在する。なかでも補中益気湯は、免疫機能改善に加えて食欲改善作用を示すことから、COPD患者における易感染性の改善、栄養障害の改善が期待される。また体重減少の要因として栄養障害の他に全身性炎症の関与が考えられ (Eid AA, et al. Am J Respir Crit Care Med. 2001, 164:1414-8.)、補中益気湯による炎症指標の改善効果にも着目し、検討を行った。

今回の研究では補中益気湯群において感冒罹患回数および急性増悪回数とも有意に少ないという結果が得られた。in vitroの実験において補中益気湯の気道上皮に対するライノウイルス感染抑制作用が報告されている。その作用機序として、ライノウイルス感染受容体 (ICAM-1) の発現抑制や感染後の炎症性サイトカイン産生抑制が考えられている (Yamaya M, et al. Br J Pharmacol 2006 in press)。感冒の原因となるウイルスは数多く存在するが、同様の抗ウイルス作用により罹患回数を減少せしめ、さらには感冒に引き続く場合が多い急性増悪回数も減少させた可能性が考え

られる。

6ヶ月の観察では有意な体重増加には至らなかったが、補中益気湯群では食欲を改善し、血清プレアルブミン値の増加が認められた。プレアルブミンの半減期は1.9日と短く、蛋白に関する栄養状態の良い指標となりうることから、補中益気湯は体内の蛋白合成を改善する作用があることが示唆された。レプチンは白色脂肪細胞から分泌され、COPD患者では、血中レプチンレベルが食事摂取量や栄養治療の効果を規定すると報告されている (Schols AM, et al. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 160: 1220-6.)。一方、BMIや脂肪量で補正すると健常者と差を認めず、生理的な分泌動態にあるとも考えられており、その解釈に検討が必要な項目である。補中益気湯投与前後で、有意な変化を認めなかったことから、補中益気湯には他の摂食調節因子を介した食欲改善作用が存在している可能性が推定される。

TNF- $\alpha$ 、IL-6は炎症性サイトカインであり、除脂肪量 (lean body mass ; LBM) の減少と血中TNF- $\alpha$ 、IL-6の上昇との関連、TNF- $\alpha$ による骨格筋アポトーシスの誘導などの報告から (Agusti AG, et al. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 166: 485-9.)、全身性炎症が体重減少の要因となる可能性が示されている。また%安静時エネルギー消費量 (%resting energy expenditure ; %REE) とTNF- $\alpha$ の正の

相関関係を認めた報告から、代謝亢進にも関与していると考えられる。

今回、IL-6に関しては有意な改善を認めなかったが、補中益気湯はTNF- $\alpha$ および高感度CRPを有意に抑制し、全身性炎症改善作用が示された。これら全身性炎症の改善が、「身体のだるさ」、「気力」、「疲れやすさ」などの自覚症状の改善につながる一要因ではないかと推測される。

アディポネクチンは抗動脈硬化作用、インスリン抵抗性改善作用を有する善玉アディポサイトカインのひとつである。TNF- $\alpha$ と拮抗的に作用すると考えられており (Sonnenberg GE, et al. *Obes Res.* 2004; 12: 180-6.)、メタボリックシンドローム等の代謝疾患での研究は多数報告があるが、COPD症例での検討は少なく、今後の研究の蓄積が必要と考えられるマーカーである。

われわれの研究では、補中益気湯によりアディポネクチンの増加を認めたが、これが補中益気湯の直接的な作用であるのか、あるいはTNF- $\alpha$ を抑制した結果であるのか、あるいは別の要因が考えられるのか、さらなる検討が必要と思われる。

以上より、補中益気湯はCOPD患者の臨床症状、栄養状態や炎症病態の改善をもたらし、免疫能増強作用や一部の抗ウイルス作用により感冒罹患回数や急性増悪回数を抑制することで、重症化移行の遷延化に寄与しうることが示唆された。

なお、COPD の病態評価、補中益気湯の作用機序に関する基礎研究の考案は、各分担研究報告書の中に記載した。

## E. 結論

COPDは、労作時呼吸困難を主訴とし、QOLが著しく障害される病態である。経過中に体重減少を認める患者は生命予後が悪く、体重減少は、呼吸機能の一指標としての気流制限の程度（%一秒量）とは独立した予後規定因子とされている。体重減少に対する治療法として、食事指導や栄養補助療法が用いられているが、必ずしも十分な効果は得られていない。さらに、栄養障害は易感染性を招き、COPDの急性増悪発症に関与する可能性も考えられる。COPD患者では急性増悪の度に呼吸機能が低下していくことが想定され、急性増悪の頻度を減らすことが呼吸機能の維持に貢献するものと考えられる。またCOPDは、全身性炎症性疾患であるという認識が高まってきており、それに対する治療も必要と考えられる。漢方補剤である補中益気湯には、食欲改善や免疫機能改善作用、抗ウイルス作用があり、COPDの栄養障害や易感染性の改善、急性増悪の抑制により、QOLの改善、重症化移行の遅延化、呼吸機能の維持をもたらすことが予測される。本研究では、補中益気湯による臨床症状の改善効果、栄養・炎症指標の改善効果に関する

検討を行った。

結果として、補中益気湯投与群において、感冒罹患回数および急性増悪回数とも有意に少ないという結果が得られた。補中益気湯には抗ウイルス作用があるので、感冒罹患回数を減少せしめ、さらには感冒に引き続く場合が多い急性増悪回数も減少させた可能性が考えられる。また、補中益気湯は「食欲」「身体のだるさ」「気力」「疲れやすさ」を改善し（気虚の改善）、栄養状態を改善、さらに全身性炎症反応を低下させた。補中益気湯の正確な作用機序は必ずしも明らかではないが、補中益気湯はCOPD患者の臨床症状、栄養状態/炎症病態の改善をもたらし、重症化移行の遷延化に寄与しうることが示唆された。

COPD の病態評価、補中益気湯の作用機序に関する基礎研究の結論は、各分担研究報告書の中に記載した。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし

## G. 研究発表

（主任研究者）福地 義之助

Zielinski J, Bednarek M, Gorecka D, Vieggi G, Hurd SS, Fukuchi Y, Lai CK, Ran PX, Ko FW, Liu SM, Zheng JP, Zhong NS, Ip MS, Vermeire PA. Increasing COPD awareness. *Eur Respir J.* 2006; 27: 833-52.

Wagner PD, Viegi G, Luna CM, Fukuchi Y, Kvale PA, El Sony A. Major causes of death in China. *N Engl J Med.* 2006 ;354: 874-6;

Fukuchi Y, Nagai A, Seyama K, Nishimura M, Hirata K, Kubo K, Ichinose M, Aizawa H, Research Group TB. Clinical efficacy and safety of transdermal tulobuterol in the treatment of stable COPD: an open-label comparison with inhaled salmeterol. *Treat Respir Med.* 2005 ;4: 447-55.

Kasagi S, Seyama K, Mori H, Souma S, Sato T, Akiyoshi T, Suganuma H, Fukuchi Y. Tomato juice prevents senescence-accelerated mouse P1 strain from developing emphysema induced by chronic exposure to tobacco smoke. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006; 290: L396-404.

(分担研究者) 永井 厚志

Tsuji T, Aoshiba K, Nagai A. Alveolar cell senescence in pulmonary emphysema patients. *Am J Respir Crit Care Med* 174: 886-893, 2006

Ishikawa T, Aoshiba K, Yokohori N, Nagai A. Macrophage-colony stimulating factor aggravates rather than regenerates emphysematous lungs in mice. *Respiration* 73:538-545, 2006.

Yagi O, Aoshiba K, Nagai A. Activation of nuclear factor-kB in airway epithelial cells in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 73:610-616, 2006.

(分担研究者) 中山 勝敏

Yamaya M, Sasaki T, Yasuda H, Inoue D, Suzuki T, Asada M, Yoshida M, Seki T, Iwasaki K, Nishimura H, Nakayama K. Hochu-ekki-to inhibits rhinovirus infection in human tracheal epithelial cells. *Br J Pharmacol* (in press).

Yasuda H, Nakayama K, Yamaya M. Carbocysteine therapy in elderly with chronic obstructive pulmonary disease. *J Am Geriatr Soc* 2006; 54: 1793-1794.

Nakayama K, Kikuchi A, Yasuda H, Ebihara S, Sasaki T, Ebihara T, Yamaya M. Heme oxygenase-1 gene promoter polymorphism and the decline in lung function in Japanese male subjects. *Thorax* 2006; 61: 921.

Yamaya M, Suzuki T, Ishizawa K, Sasaki T, Yasuda H, Inoue D, Kubo H, Nakayama K, Nishimura H, Sekizawa K. COPD and Macrolide. *JMAJ* 2006; 49: 158-166.

Yasuda H, Yamaya M, Sasaki T, Inoue D, Nakayama K, Yamada M, Asada M,

Yoshida M, Suzuki T, Sasaki H. Carbocysteine inhibits rhinovirus infection in human tracheal epithelial cells. *Eur Respir J* 2006; 28: 1-8.

Yasuda H, Yamaya M, Sasaki T, Inoue D, Nakayama K, Tomita N, Yoshida M, Sasaki H. Carbocysteine reduces frequency of common colds and exacerbations in COPD patients. *J Am Geriatr Soc* 2006; 54: 378-80.

(分担研究者) 磯濱 洋一郎

Kuwahara I, Lillehoj EP, Lu W, Singh IS, Isohama Y, Miyata T, Kim KC. Neutrophil elastase induces IL-8 gene transcription and protein release through p38/NF-kappaB activation via EGFR transactivation in a lung epithelial cell line. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*, 291, L407-16, 2006.

Nomura J, Horie I, Seto M, Nagai K, Hisatsune A, Miyata T, Isohama Y. All-trans retinoic acid increases expression of aquaporin-5 and plasma membrane water permeability via transactivation of Sp1 in mouse lung epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.*, 351, 1048-53, 2006.

Nomura J, Hisatsune A, Miyata T, Isohama Y. The role of CpG methylation in cell type-specific expression of the aquaporin-5 gene.

*Biochem Biophys Res Commun.* 2007 in press.

Nagai K, Watanabe M, Mayumi Seto, Hisatsune A, Miyata T, Isohama Y. Nitric Oxide decreases cell surface expression of aquaporin-5 and membrane water permeability in lung epithelial cells *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 in press.

(分担研究者) 瀬山 邦明

Sato T, Seyama K, Sato Y, Mori H, Souma S, Akiyoshi T, Kodama Y, Mori T, Goto S, Takahashi K, Fukuchi Y, Maruyama N, Ishigami A. Senescence marker protein-30 protects mice lungs from oxidative stress, aging, and smoking. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 ; 174:530-7.

長岡鉄太郎、瀬山邦明. 知っておきたい頻用薬の上手な使い方 吸入式  $\beta$  2 受容体刺激薬. 日本医事新報. 4300: 44-45, 2006

森貴紀、瀬山邦明, 関谷充晃. 知っておきたい頻用薬の上手な使い方 鎮咳薬・去痰薬. 日本医事新報. 4296: 46-48, 2006.

(分担研究者) 巽 浩一郎

Shinozuka N, Tatsumi K, Nakamura A, Terada J, Kuriyama T. A traditional herbal medicine, Hochuekkito, improves



systemic inflammation in patients with COPD. *J Am Geriatr Soc* 2007 (in press)

(分担研究者) 植木 純

植木純、飛野和則、吉見格. 増加する COPD- 疫学. *総合臨床* 55: 2407-2412, 2006.

植木純. HOT システムの現況—在宅呼吸ケア白書より—. *日本呼吸管理学会雑誌* 15: 535-539, 2006.

植木純. 21 世紀の在宅医療 在宅酸

素療法. *クリニカルプラクティス* 25: 609-614, 2006.

植木純. 「在宅呼吸ケア白書」の概要. *呼吸* 25: 1129-1134, 2006.

日本呼吸器学会在宅呼吸ケア白書制作委員会（発行者：福地義之助、事務局：植木純）. 2006 在宅呼吸ケア白書 COPD（慢性閉塞性肺疾患）患者アンケート調査疾患別解析.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

# II 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
分担研究報告書

タバコ曝露ラットに対する補中益気湯の効果の検討

分担研究者 杉山 幸比古

研究協力者 中山 雅之、坂東 政司、卯木 希代子、

細野 達也、山沢 英明、大野 彰二

自治医科大学内科学講座呼吸器内科学部門

研究要旨

補中益気湯は、補剤として食欲増進作用、栄養状態改善による体重増加作用をもたらす可能性がある。エンドトキシン刺激による急性肺損傷マウスモデルにおいては、補中益気湯はそれを抑制しうる効果がある。また、急性タバコ曝露ラットでは、補中益気湯は、タバコ曝露中止後における体重増加抑制改善効果がある。さらに、タバコ曝露後の体重減少に対する補中益気湯の効果は、タバコ曝露の程度により影響を受けることを認めた。

A. 研究目的

1. 補中益気湯をタバコ曝露前から投与し、さらにタバコ曝露量を以前の検討よりも増量して、体重、BALF中のTNF- $\alpha$ 値を測定すること。
2. 以前我々が報告したタバコ曝露後の体重減少に喫煙が影響していることを証明するため、ラットの血清中、尿中コチニン濃度を測定すること。
3. タバコ曝露が血清中活性型グレリン濃度に与える影響を見ること。

B. 研究方法

1. 補中益気湯の前投与による検討(図1)

Wistar rat (4週齢) 雄性を用いて検討した。補中益気湯餌はツムラ社の

補中益気湯(TJ-41)の原末を用いて1g / kg（ヒトの投与量の約7倍）の投与量となるように1%エキス原末混合飼料を作成した。A,B群それぞれ5匹に分けて、A群に通常餌を、B群にはTJ-41餌を4週間投与して、その後にタバコ曝露を加えた。タバコ曝露は、ハイライト1本分のタバコ主流煙を1日30分かけて、週5日、5週間継続して受動喫煙させた。毎週体重測定を行った。タバコ曝露終了後にBALを施行し、BALF中のTNF-aをELISAで測定した。さらにはBALF中肺胞マクロファージからのTNF- $\alpha$ 産生を*in vitro*で測定した。用いた培養液はRPMI1640で、測定方法については①BALFを1時間培養し付着細胞を肺胞

マクロファージとして使用し、②上清を除去し、PBS1mlで1回洗浄、③LPS群はRPMI 500  $\mu$  L+LPS1  $\mu$  L/mLで刺激、④18時間後にサンプリング、⑤上清中のTNF- $\alpha$ をELISA kitで測定した。

## 2. 補中益気湯の同時投与による検討 (図2)

Wistar rat (6週齢) 雄性を用いて検討した。A,B,C群それぞれ5匹に分けて(途中死亡したラットがいたためA,C群は4匹ずつになった)、A,B群には通常餌を、C群には上述と同様に作成したTJ-41餌を合計7週間投与した。B,C群には開始日より上述と同様のタバコ曝露を3週間行った。毎週体重測定を行った。タバコ曝露が終了した3週後に尿中と血清中コチニン濃度を測定した。7週後に血清中活性型グレリン濃度を測定した。またBALを施行し、血清とBALF中のTNF- $\alpha$ 値をELISAで測定した。

## C. 研究結果

### 1. 補中益気湯の前投与による検討

A,B群における合計9週間の体重増加量は差を認めなかった。(図3)。タバコ曝露を行った5週間における体重増加も同様に差を認めなかった。また、BALF細胞分画はいずれもAB群で差は認められなかった(図4)。マクロファージ培養上清中TNF- $\alpha$ 濃度はLPS刺激後に著明な上昇を認めたが、AB間で差は認められなかった。

以上より、補中益気湯の前投与による検討では、補中益気湯前投与後のタバコ曝露において、2群間でラットの体重増加、BALF細胞分画、TNF- $\alpha$ 値に明らかな差は認められなかった。

### 2. 補中益気湯の同時投与による検討

タバコ曝露を行った3週間における体重増加は、B, C群ではA群と比べ有意に体重増加が抑制されていたが、B, C群間には補中群でやや多い傾向はあるものの有意差は認められなかった(図5)。3週間のタバコ曝露終了後に尿中、血清中コチニン濃度を測定したところ、タバコ曝露を行っていたB, C群はA群と比べ明らかにコチニン濃度が上昇していた(図6)。タバコ曝露終了4週後における体重増加は、B, C群ではA群と比べ有意に体重が増加していた。B, C群間ではC群の方がやや増加量が多い傾向があるものの、有意差は認められなかった(図7)。以前著者らが報告した、タバコ曝露量を週3日、2週間の低曝露にして行った同様の検討においては、タバコ曝露終了4週後における体重増加は、B, C群ではA群に比べ有意に体重が増加し、さらにC群はB群と比べ有意に体重が増加していた。

血清中の活性型グレリン濃度は、タバコ曝露のB, C群ではA群と比べ有意に上昇していたが、B, C群間で差は認められなかった(図8)。BALF細胞分画は、タバコ曝露のB, C群ではA