

## E. 結論

In vitro の実験系において、補中益気湯は気道上皮に対するライノウイルスの感染を有意に抑制する。そのメカニズムとして、ライノウイルス

感染受容体の発現抑制、ウイルス感染後の炎症性サイトカインの産生抑制、酸性エンドゾームの修飾等によることが考えられた。

## 7. 補中益気湯構成成分の抗ウイルス効果に関する研究

### A. 研究目的

ライノウイルスは風邪の主因であり、慢性閉塞性肺疾患の急性増悪を引き起こす。一方、補中益気湯は、消化機能・免疫機能を増強する漢方薬で、10種の生薬（黄耆、甘草、陳皮、人参、当帰、柴胡、蒼朮、升麻、生姜、大棗）を含む。昨年我々は、培養気道上皮を用いて、補中益気湯が、感染受容体発現抑制や酸性エンドゾーム修飾を介して、ライノウイルス感染を有意に抑制することを示した（British Journal Pharmacology, *in press*）。しかし、補中益気湯には多くの構成成分が含まれ、日本薬局方によれば、その定量規格は、1日エキス分量当たり、ヘスペルジン：16-48mg、グリチルリチン：12-36mg、サイコサポニン：0.6-2.4mgを含むとされている。今回、補中益気湯中の定量規格成分中どの成分が培養気道上皮のライノウイルス感染予防に重要であるのかを検討した。

### B. 研究方法

- 1) 補中益気湯の成分解析：補中益気湯に含まれる主成分（ヘスペルジン、グリチルリチン、サイコサポニン）を3次元HPLCにて解析した。また、常用量（2.5g）の補中益気湯を内服した場合の血中の成分量を検討した。
- 2) 補中益気湯およびその成分の抗ウ

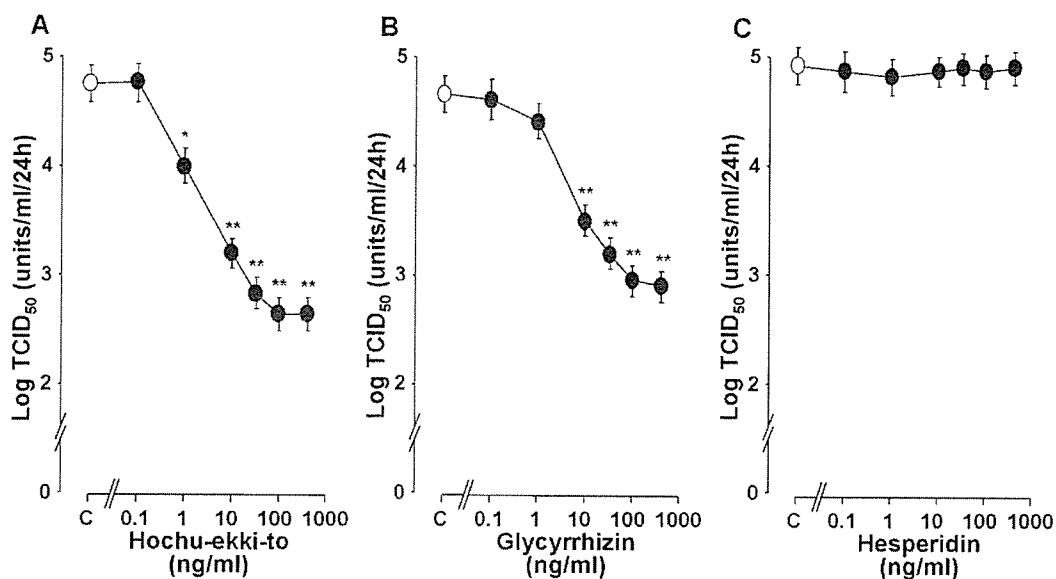
イルス効果の検討：補中益気湯、ヘスペルジン、グリチルリチンは10mg/mLにてDMSOに溶解し、遠心後その上清を希釈にて使用した。これら薬剤を培養気道上皮細胞に対して処理し、3日後、ライノウイルス主要型（RV14）を $10^5$  TCID<sub>50</sub>U/mLにて感染させた。さらにその後3日間の培養気道上皮からのウイルス放出を調べた。

### C. 研究結果

- 1) 補中益気湯成分解析：3次元HPLCを用いた解析により、補中益気湯の定量規格成分中で最も多い成分は、ヘスペルジン（陳皮のポリフェノール）、グリチルリチン（甘草のサポニン）でほぼ同量であった。補中益気湯常用量（2.5g）を内服した場合、ヘスペルジンとグリチルリチン血中濃度は100-200ng/mLと計算された。
- 2) 補中益気湯、ヘスペルジン、グリチルリチンの抗ウイルス効果の検討：  
補中益気湯は容量依存的に抗ウイルス効果を示し、ヘスペルジン換算100ng/mL濃度にてウイルス収量を約100分の1に抑制した。グリチルリチンも同様に、100ng/mL濃度において最大効果に達し、ウイルス収量を約60分の1に抑制した。しかし、補中益気湯の効果には及ばなかった。ヘス

ペルジンには抗ウイルス効果は認められなかった (図 1)。

### 補中益気湯、グリチルリチン、ヘスペルジンの抗ウイルス効果 (補中益気湯は含有ヘスペルジン量にて換算している)



#### E. 結論

In vitro の実験系において、補中益気湯の主成分ヘスペルジン、グリチルリチンの抗ウイルス効果を検討し、補中益気湯の抗ウイルス効果と比較した (補中益気湯は含有ヘスペルジン量にて換算した)。ヘスペルジンには抗ウイルス効果は認められなかつ

たが、グリチルリチンは補中益気湯と同様の抗ウイルス効果を示した。しかし、その効果は補中益気湯には及ばなかった。補中益気湯全体の抗ウイルス効果は、グリチルリチンと他の構成成分との相乗あるいは相加効果によりに発現すると考えられた。

## 8. 補中益気湯による抗炎症作用の薬理学的特性

### A. 研究目的

慢性閉塞性肺疾患（以下 COPD）の病態形成において、炎症すなわち炎症性サイトカイン類の産生亢進や好中球の活性化の重要性は明らかであり、従って、COPD の薬物療法を考える上でも、抗炎症作用は大きな意味を持つ。一方、本研究班のこれまでの研究により、補中益気湯（TJ-41）には臨床上、COPD に対する一定の治療効果が見込めることが分かってきた。TJ-41 は COPD 患者血清中の H-CRP および TNF- $\alpha$  量を低下させるなど、その作用の一部には、抗炎症作用が存在すると推定されるが、本法剤の抗炎症作用に関する詳細な

### B. 研究方法

#### 1) ラット亜急性気管支炎モデルの作成および薬物の投与

当研究室が所有する SO<sub>2</sub> ガス曝露装置（美和製作所製）を用いて、Wistar 系雄性ラット（6 週齢，九動株式会社）に SO<sub>2</sub> ガスを 1 日 2 時間，3 週間曝露し，亜急性気管支炎を惹起した。SO<sub>2</sub> ガスの濃度は，第 1 週目を 300 ppm，第 2 週目を 300-500 ppm および第 3 週目を 500 ppm とした。薬物は，第 1 日目より毎日 1 回，SO<sub>2</sub> ガス曝露の直前に投与した。補中益気湯は，25 mg/ml または 250 mg/ml の懸濁液として調製し，0.1 または 1 g/kg となるように，ゾンデを通じて胃内投与した。

薬理学的検討は行われていない。

そこで我々は，まず，SO<sub>2</sub> ガス曝露により作成したラットの亜急性気管支炎モデルを用いて，TJ-41 が気道炎症に対する抑制作用をもつか否かについて調べた。次に，TJ-41 の抗炎症作用の機序を考えるために，種々の *in vitro* 試験系を用いて，TJ-41 の効果を調べた。

なお，本研究では，TJ-41 の構成生薬の一つであり，本法剤の抗炎症作用を担う可能性があると考えられる glycyrrhizin についても同様に検討し，既存の抗炎症薬である dexamethasone（DEX）を対症薬として実験を行った。

一方，dexamethasone および glycyrrhizin は皮下投与とした。

#### 2) 気管支肺胞洗浄および成分の生化学的分析

最終日の SO<sub>2</sub> ガス曝露終了後，気管カニューレを介して肺洗浄を行った。10 ml の生理食塩水の注入，回収を二回繰り返し，その回収液（BALF）を遠心（450 xg, 10 min）により沈渣と上清に分離した。沈渣中の総細胞数を計測し，細胞成分はさらにギムザ染色を施し，マクロファージ，好中球，好酸球およびリンパ球の構成比を顕微鏡下の計測により求めた。また，BALF 上清は，総タンパク質，phosphatidylcholine および fucose 濃度

の測定に供し，それぞれ下記の方法により測定した．

### 総タンパク質

総タンパク質濃度の測定には，Bio-Rad 社プロテインアッセイ試薬を用いて，BSA を標準物質とした検量線により定量化した．

### Phosphatidylcholine

Phosphatidylcholine 濃度は，BALF 上清を試料としてアクアオートカインス PL (カインス社) を用いて測定した．標準物質としては，本キットに含まれる標準 phosphatidylcholine を用いた．

### Fucose

Fucose 濃度は，BALF 上清を試料として Gibbons 法により測定した．標準物質としては，fucose (Wako 社) を用いた．

### 細胞株および培養法

In vitro 試験には，理研細胞バンクより入手したヒト肺上皮腺癌細胞株 A549 細胞を用いた．A549 細胞は 10% ウシ胎仔血清および抗生物質 (penicillin G 100 units/ml, streptomycin 100 mg/ml) を添加した DMEM 用いて，5% CO<sub>2</sub>，37°C に保った CO<sub>2</sub> インキュベーター内で培養した．

### レポーター遺伝子

IL-8 プロモーターのレポーター遺伝子は，A549 細胞より調整したゲノム DNA を鋳型として上流 (5'-

GATTGGCTGGCTTATCTTCACC-3') および下流 (5'-TTGTCCTAGAAGCTTGTGTGCTCTGCTGTC-3') のプライマーを用いた PCR 法によって -339 ~ +21 の 361 base 長をクローニングし，ルシフェラーゼ Vector の上流に組み込んだ．

### 細胞内への遺伝子導入及びプロモーター活性の測定

細胞への DNA の導入には HilyMax (同仁化学) を用い，導入効率のバラつきを補正するために，細胞へのレポーター遺伝子の導入時に phRG-TK vector (Promega) を同時に導入した．DNA を導入した細胞は 24 時間後に薬物を含む DMEM に培養液を交換し，さらに 6 時間培養して，ルシフェラーゼアッセイに供した．

ルシフェラーゼアッセイは薬物存在下に培養した細胞の可溶化液を試料として，Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega) を用いて行い，ルシフェラーゼの発光をルミノメーター (Lumat LB9507, EG&G Berthold 社) にて測定した．

### 蛍光免疫染色

試料とする細胞は，ファイブロネクチンでコートした 35-mm glass bottom dish を用いて培養した．細胞を 4% パラホルムアルデヒド溶液で固定，0.5% Triton X-100-PBS 処理により細胞膜透過標本とした．これを，常法により，3,8-Diamino-5-[3-

(diethylmethylammonio)propyl]-6-phenyl-phenanthridinium diiodide (PI) (Sigma) を用いて核染色するとともに、抗 p65 抗体 (Santa Cruz) および FITC で標識した抗ウサギ抗体を用いた免疫染色によって p65 を染色した。標本は共焦点レーザー走査型顕微鏡 (Olympus) を用いて、488 nm および 543 nm の励起光を照射し蛍光観察した。

#### **iNOS mRNA 量の測定**

iNOS mRNA は real-time PCR 法により測定した。各ラットの左肺実質より Trizol 試薬 (Invitrogen 社) により RNA を抽出し、逆転写の後に iTaq SYBER Green Supermix with ROX (Bio-Rad) を用いて、iNOS mRNA および内部標準として GAPDH の real-time PCR を行った。

#### **C. 研究結果**

##### **1) SO<sub>2</sub> ガス曝露ラットにおける補中益気湯の抗炎症作用**

Fig. 1 に示すように、SO<sub>2</sub> ガス曝露により、BALF 中には著明な総白血球数の増加すなわち浸潤が認められ、明らかな気道炎症を生じていた。ギムザ染色を施し、細胞の組成を確認したが、好中球の浸潤が著明であり、またリンパ球およびマクロファージも増加していたが、好酸球は殆ど認められず、临床上の気管支炎と類似の病態であることが確認された。これに対し、dexamethasone (以下、DEX) (0.1 mg/kg, sc), glycyrrhizin (以下、GL) および補中益気湯 (以下 TJ-41) を投与群では、BALF 中の総細胞数が有意 ( $p < 0.05$ ) に減少した (Fig. 1)。

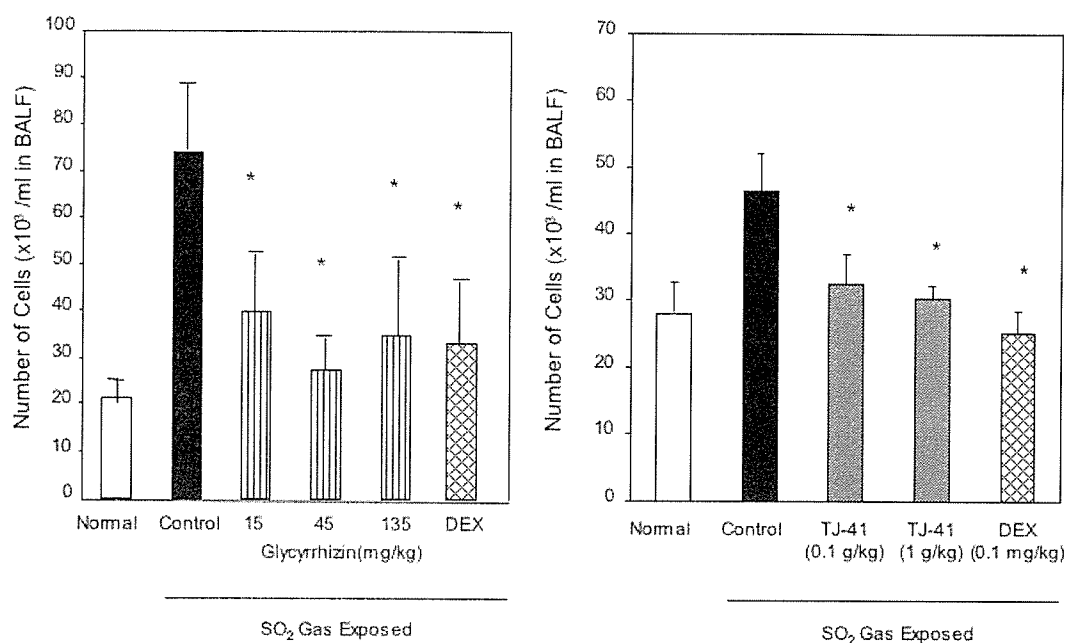


Fig. 1. Effects of Glycyrrhizin, TJ-41 and Dexamethasone on Cell Number in BALF from SO<sub>2</sub>-exposed Rat Lungs

BALF 中への白血球の浸潤とよく相関して、SO<sub>2</sub>ガス曝露による BALF 中のタンパク質濃度の上昇が生じた (Fig. 2). タンパク質の組成については検討しなかったが、血管透過性

の亢進に伴うアルブミン等血清成分の浸潤によると考えられる. この BALF タンパク質量の増加に対しても、DEX, GL および TJ-41 は抑制することが分かった (Fig. 2).

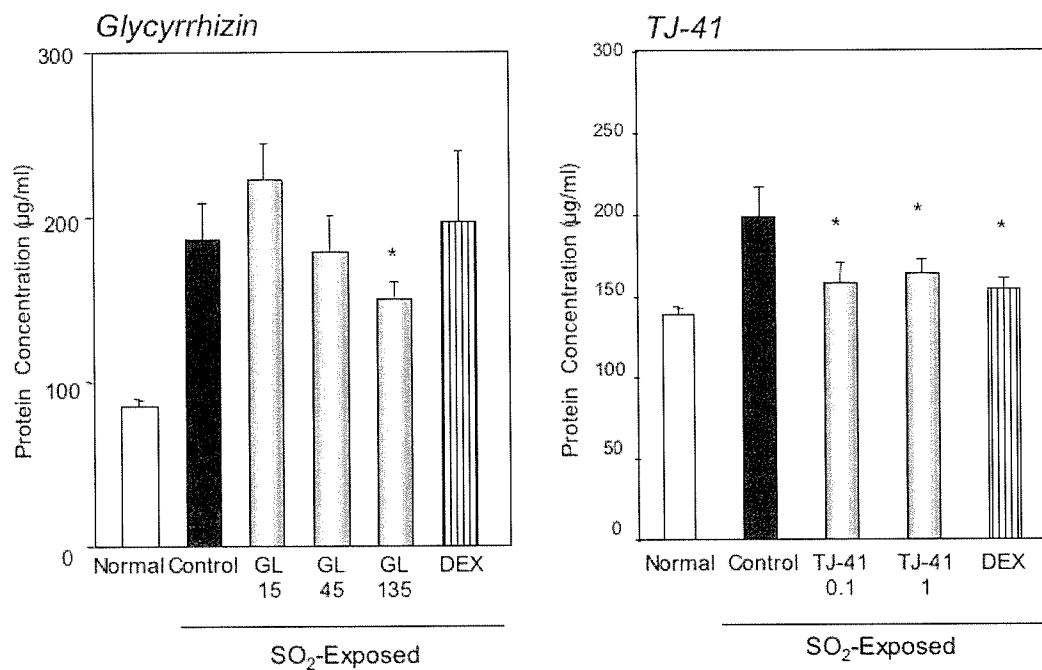


Fig. 2. Effects of GL, DEX and TJ-41 on Protein Content in BALF from SO<sub>2</sub> Gas-exposed Rats

一方、肺サーファクタント分泌の指標である phosphatidylcholine (PC) 量も SO<sub>2</sub> ガス曝露によって著明に増加したが、今回用いた薬物はいずれ

も PC 量には影響せず (Fig. 3)、サーファクタント分泌に対する著明な作用はないと考えられた。



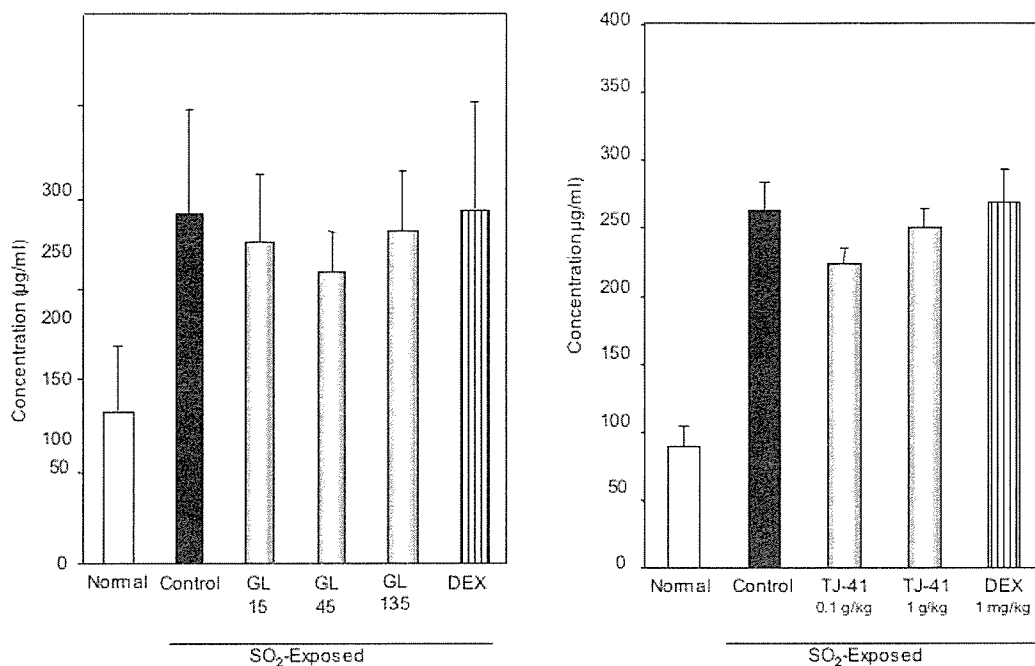


Fig. 3. Effects of GL, TJ-41 and DEX on Phosphatidylcholine Contents in BALF from SO<sub>2</sub>-gas Exposed Rat Lungs

さらに、粘液分泌の指標として fucose 量も測定した。SO<sub>2</sub> ガス曝露群では、正常ラットに比べ fucose 量の有意な増加が認められたが、BALF 中には不溶性の痰が多く認められ (Fig. 4)、これらをガーゼにて濾別したた

めに、その変化は予想した結果よりも小さかった。各薬物も、SO<sub>2</sub> ガスによる fucose 量の増加を抑制する傾向にはあったが、統計学的に有意な低下を示したのは高用量 (135 mg/kg) の GL だけであった (Fig. 4)。

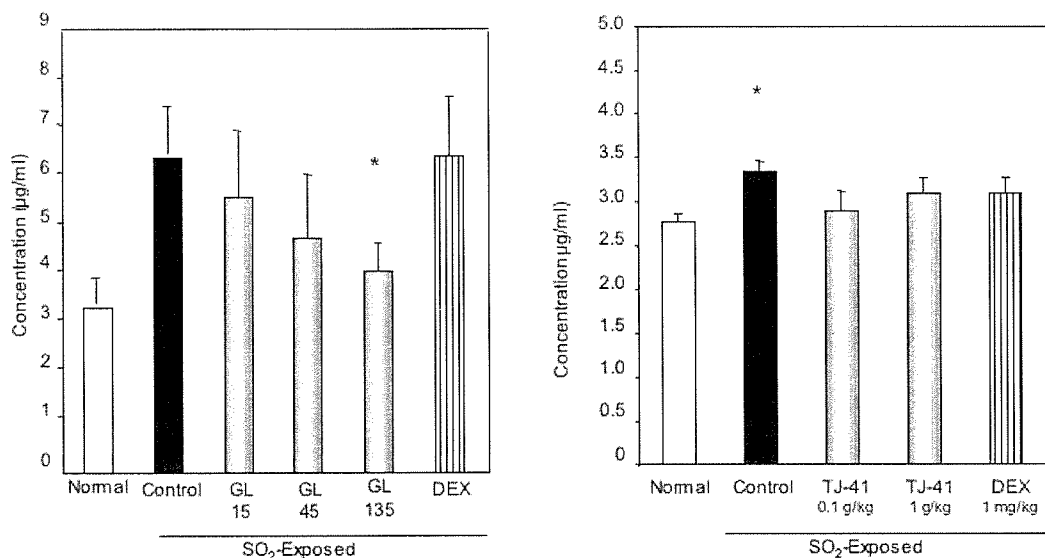


Fig. 4. Effects of GL, TJ-41 and DEX on Fucose Contents in BALF from SO<sub>2</sub>-gas Exposed Rat Lungs

これらの結果より、SO<sub>2</sub> ガス曝露により惹起した気管支炎に対して、TJ-41 は DEX および GL と同様に抗炎症作用を示すことが明らかとなった。DEX 投与群では、臨床的な副作用と良く一致して、著明な体重増加の抑制と胸腺の萎縮が認められた。しかし、TJ-41 および GL ではこれらの副作用は認められず、両薬物による抗炎症作用の機序が、グルココルチコイドとは異なることが推定された。

## 2) In vitro 試験による補中益気湯および GL の抗炎症作用機序に関する解

析

### 2-1) GL, TJ-41 および DEX の IL-8 プロモーター活性に対する作用

DEX を始めとするグルココルチコイド類は、転写因子 NF-κB および AP-1 等の抑制を通じて、IL-8 等のサイトカイン類の産生を抑制することで抗炎症作用を現すことが知られている。そこで、TJ-41 および GL がグルココルチコイド様の NF-κB 抑制作用をもつか否かについて、NF-κB 依存性の IL-8 プロモーターを用いたルシフェラーゼアッセイにより調べた。

肺上皮細胞の細胞株である A549 細胞に IL-8 プロモーターを組み込んだルシフェラーゼ遺伝子を一過性に導入し、これを TNF- $\alpha$  で刺激すると、Fig. 5 に示すように、プロモーター活

性は亢進された。これに対し、DEX は TNF- $\alpha$  による活性化亢進を著明に抑制したが、GL および TJ-41 でも DEX と同様に有意な ( $p < 0.05$ ) IL-8 プロモーター活性化抑制作用が認められた (Fig. 5)。

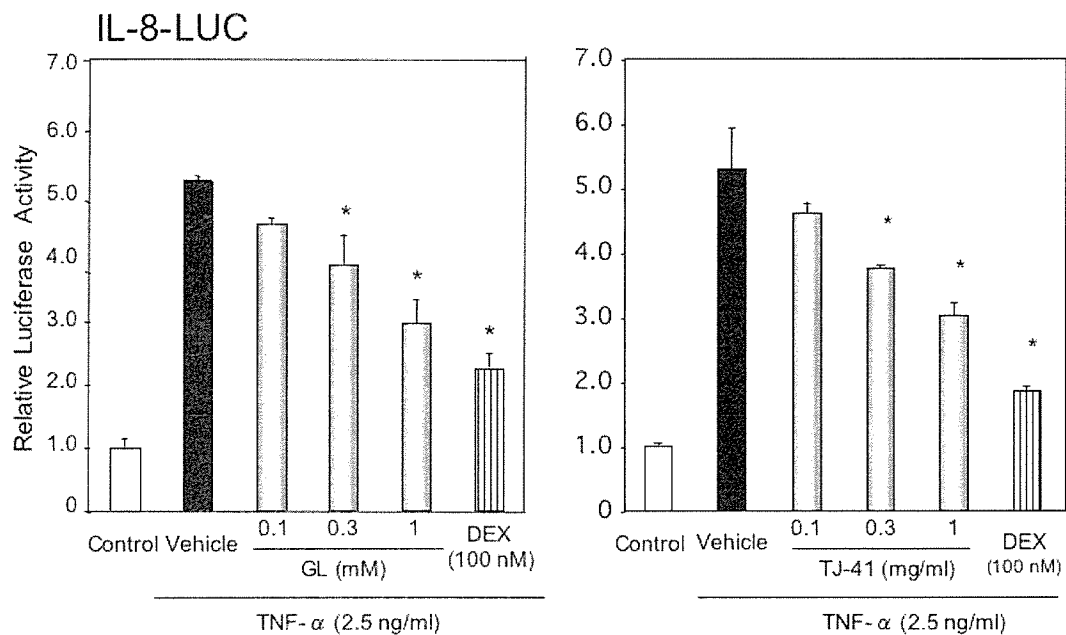


Fig. 5 Transrepression by GL, TJ-41 and DEX on TNF- $\alpha$ -induced IL-8 Promoter Activation in A549 Cells

DEX による IL-8 プロモーター活性化抑制作用はグルココルチコイド受容体 (GR) を介して生じると考えられる。しかし、GL および TJ-41 が DEX と同様に GR を活性化するか否かについては不明である。そこで、GR 阻

害薬である RU486 存在下に同様の実験を行った。RU-486 は DEX の作用を有意に消失させたが、GL および TJ-41 による抑制作用には著明な影響を与えなかった (Fig. 6)。すなわち、興味深いことに、GL および TJ-41 は

GR 非依存的に TNF- $\alpha$ による IL-8 プロモーターの活性化を抑制すると考えられた。

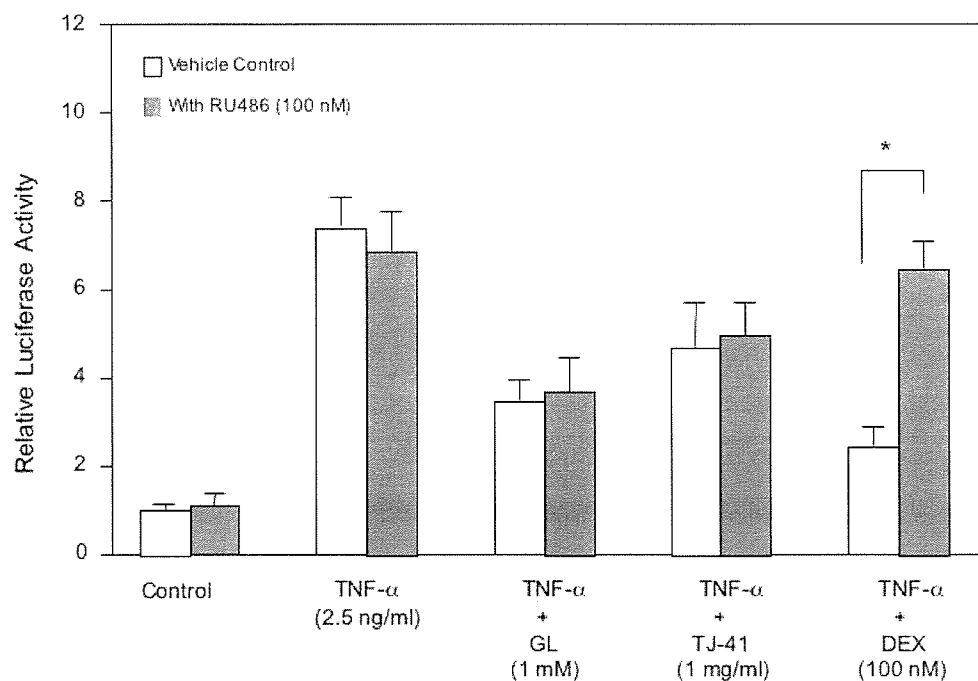


Fig. 6. GL and TJ-41 Decrease IL-8 Promoter Activity Not through Glucocorticoid Receptor

### 2-2) GL による転写調節作用の特性

GL および TJ-41 による IL-8 プロモーター活性化抑制作用について、さらに分子薬理的に追究した。まず、GL の作用について記述する。GL の IL-8 プロモーター活性化の抑制作用が NF- $\kappa$ B の抑制であることを

確認するために、IL-8 プロモーターの代わりに NF- $\kappa$ B 特異的配列をルシフェラーゼ遺伝子上流に組み込んだ p $\kappa$ B-Luc を用いて、同様の実験をおこなった。その結果、GL は濃度依存的に TNF- $\alpha$  により惹起した転写亢進を阻害し (Fig. 7),

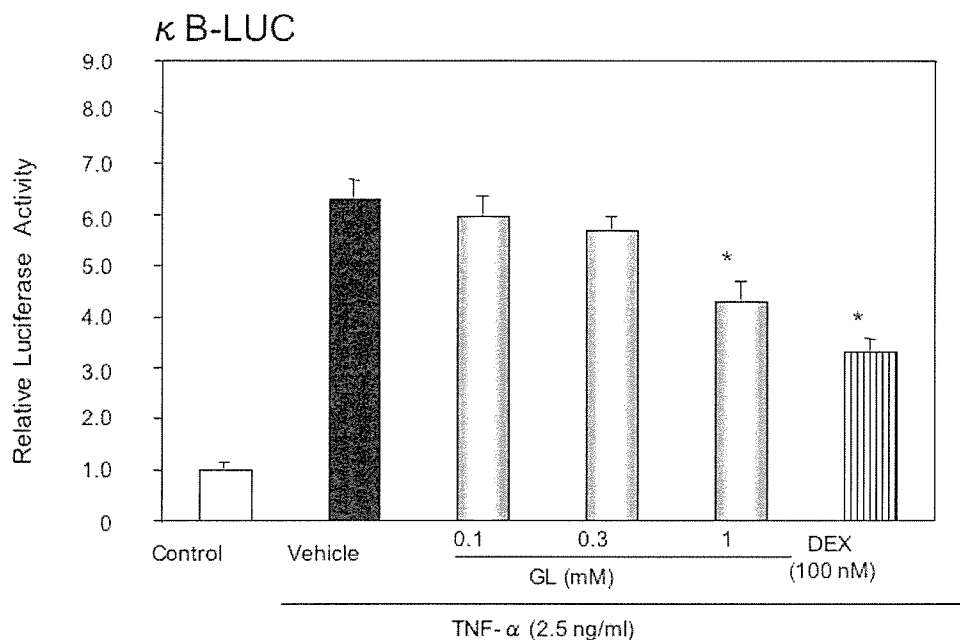


Fig. 7. Transrepression by GL and DEX on TNF- $\alpha$ -induced NF-kappa B Promoter Activation in A549 Cells

GL に NF- $\kappa$ B 抑制作用があることが確認された。また、内因性の IL-8 mRNA の発現量に対する GL および DEX の作用を real-time PCR 法により測定したが、前述のルシフェラーゼアッセイの結果とよく相関して、IL-8

mRNA 量は、TNF- $\alpha$  によって増加し、この増加は DEX および GL によって阻害された (Fig. 8)。従って、GL は DEX と同様に NF- $\kappa$ B を阻害し、IL-8 の mRNA 発現を転写レベルで抑制することが考えられた。

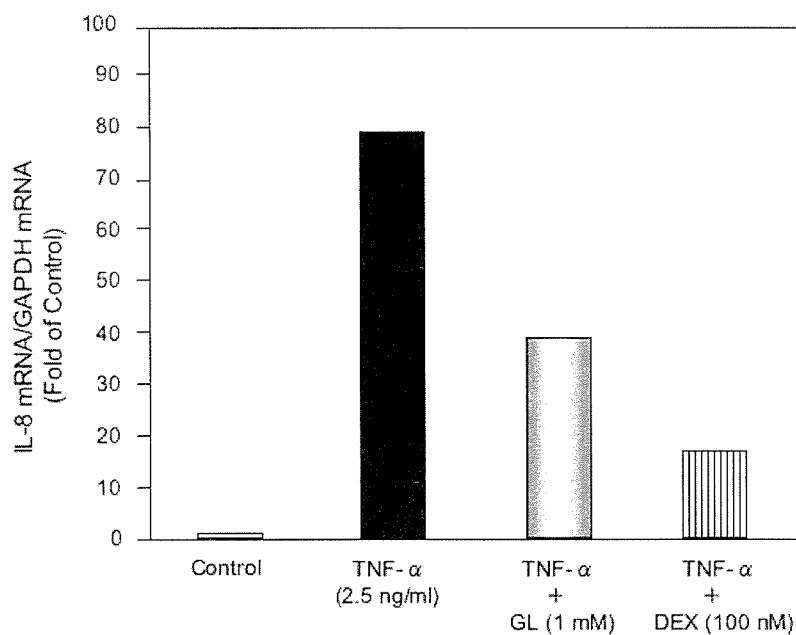


Fig. 8 Effects of GL and DEX on TNF- $\alpha$ -induced IL-8 mRNA Expression in A549 Cells

一般に、DEXによるNF- $\kappa$ Bの阻害は、p50およびp65の核移行の阻害ではなく、核内で生じていると考えられている。しかし、GLによる抑制作用にはTNF- $\alpha$ 受容体およびその下流シグナルの抑制が関わっている可能性も考えられる。そこで、DEXお

よびGLのp65の核移行に対する作用を調べた。その結果、GLはDEXと同様に、TNF- $\alpha$ によるp65の核移行に影響せず (Fig. 9)、GLはGRを介さないものの、DEXと同様に核内でNF- $\kappa$ B活性を阻害すると推定された。

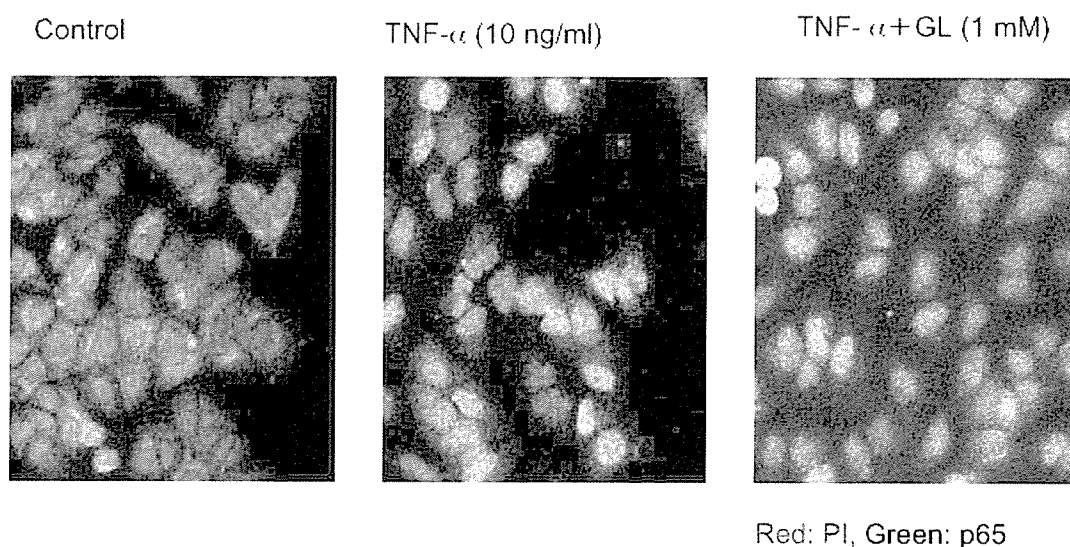


Fig. 9. Effect of GL on Nuclear Localization of NF-kB p65 in A549 Cells

### 2-3) GL および TJ-41 による転写調節作用への PPAR の関与

上述の GR 阻害薬を用いた阻害実験により, GL および TJ-41 による IL-8 プロモーター活性の抑制は, GR 非依存的であることが判明した. 近年, GR 以外に抗炎症作用を持つ核内受容体として PPAR が注目を集めている. そこで, PPAR- $\alpha$  および PPAR- $\gamma$  の作用薬および阻害薬を用いて, GL および TJ-41 の作用に PPAR が関わる可能性について調べた.

PPAR- $\alpha$ ・PPAR- $\gamma$  の選択的阻害薬として, MK886・GW9662 を用い, TNF- $\alpha$  で惹起した IL-8 プロモーター

の活性化に対する GL および DEX の抑制作用に対する各阻害薬の効果を判定した. なお, 両 PPAR 阻害薬の濃度は既報の文献中で用いられている最高濃度に設定した. その結果, Fig. 10 に示すように, MK886 および GW9662 はいずれも GL および DEX による IL-8 プロモーターの活性化抑制に影響しなかった. 一方, PPAR- $\alpha$  作用薬である Wy14643 による IL-8 プロモーター活性に対する作用も調べたが, Wy14643 は, DEX, GL および TJ-41 とは異なり, TNF- $\alpha$  により惹起した IL-8 プロモーターの活性化を抑制しなかった (Fig.11).

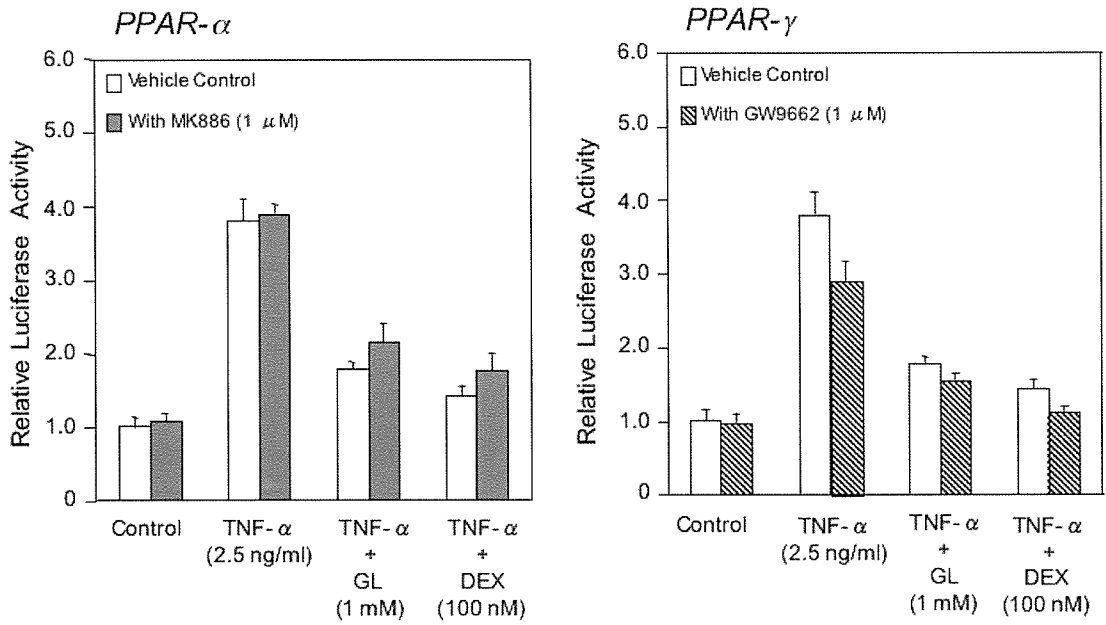


Fig. 10. GL Decreases IL-8 Promoter Activity Not through PPAR- $\alpha$  and PPAR  $\gamma$

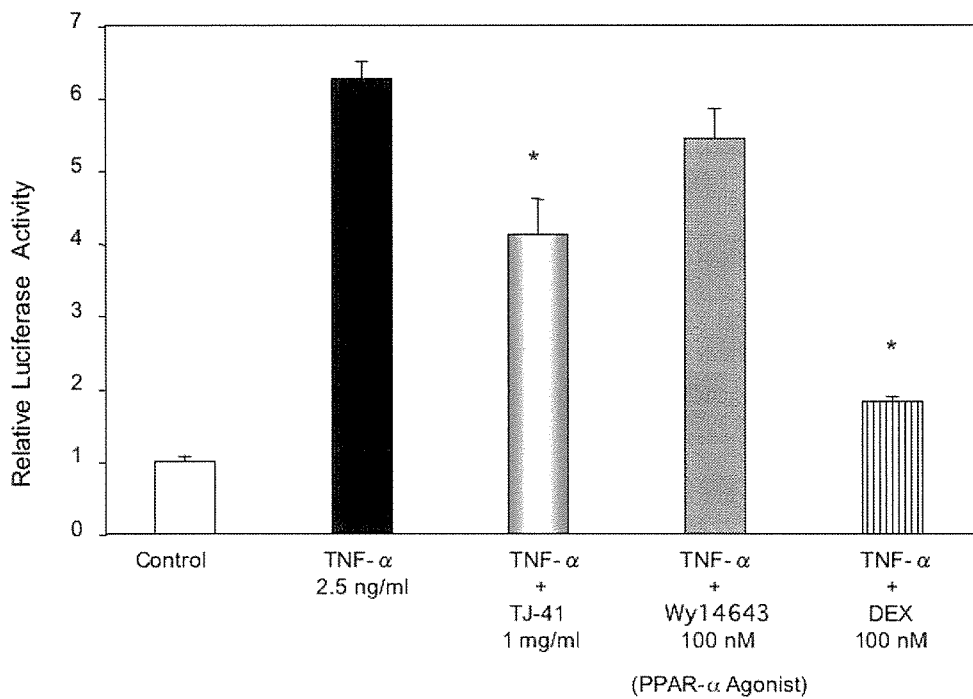




Fig. 11. Wy14,643, a PPAR-alpha Agonist, Does not Decrease IL-8 Promoter Activity in A549 Cells

さらに、GL および TJ-41 が PPARs リガンド様作用をもつか否かを判定するために、PPAR 感受性と報告されている iNOS の mRNA 発現に対する作用を調べた。A549 細胞を cytokine mix (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  および INF- $\gamma$ ) で刺激し iNOS の発現を誘導し、iNOS の mRNA は real-time PCR 法により検出した。本実験系では、PPAR 作用薬

のうち、PPAR- $\gamma$  作用薬である 15d-PGJ<sub>2</sub> だけが iNOS の発現を抑制し、PPAR- $\alpha$  作用薬である Wy14643 には、著明な作用は認められなかった (Fig. 12)。一方、DEX, GL および TJ-41 については、DEX および GL で強い抑制作用を認めたが、TJ-41 では iNOS の誘導を抑制できなかった (Fig. 12)。

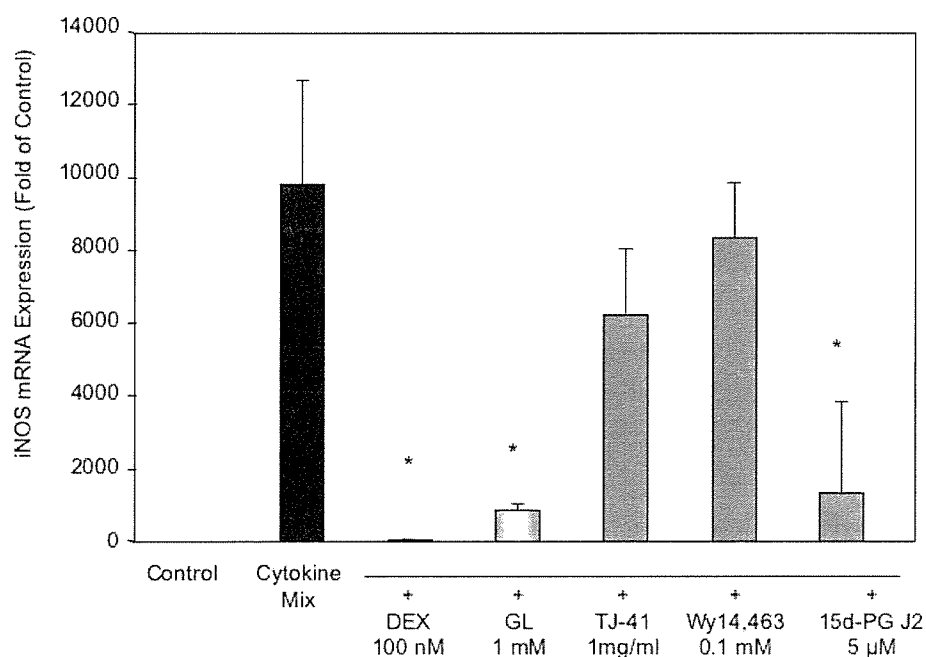


Fig. 12. Effects of Various Anti-inflammatory Reagents on iNOS mRNA Expression in A549 Cells

#### D. 考察

TJ-41 は臨床上 COPD の病態に一定の治療効果を示すと考えられ、それには抗炎症作用が関わっている可能性が考えられる。また、TJ-41 は抗炎症作用の示されている GL を主成分とする甘草をその構成生薬として含んでおり、そのことも TJ-41 に抗炎症作用がある可能性を示唆している。しかし、TJ-41 の抗炎症作用を明確に示す薬理的な成績はこれまでにない。そこで本研究では、まず TJ-41 の抗炎症作用の有無を明確にすることを目的としたが、複数のデータが TJ-41 に抗炎症作用があることを示した。

第1に、SO<sub>2</sub> ガス曝露により作成したラット気管支炎モデルにおいて、TJ-41 は BALF 中の白血球およびタンパク質量の増加を著明に抑制した。また、*in vitro* での IL-8 プロモーター活性を指標に調べた IL-8 産生についても TJ-41 は著明に抑制した。これらの成績は、TJ-41 の気道炎症抑制作用を *in vivo* および *in vitro* の両実験系で示すものであり、白血球、特に好中球の活性化に関わる IL-8 の産生抑制が少なくとも一部関わっている可能性を示している。

これらの作用は、対象のために調べたグルココルチコイド DEX の作用と類似していた。しかしながら、*in vivo* での TJ-41 の連日投与では、DEX 投

与群で生じた体重の増加抑制や胸腺の萎縮は認められず（データは示さず）、TJ-41 にグルココルチコイド様物質すなわち GR のリガンドが含まれている可能性は低いと考えられた。このことを支持するように、*in vitro* の実験でも TJ-41 による IL-8 プロモーター活性の抑制は GR 阻害薬の影響を受けなかった (Fig. 6)。

一方、本研究では、GL も DEX と同様の *in vivo* での抗炎症作用および *in vitro* での IL-8 プロモーター活性化抑制作用をもつことが分かった。しかし、TJ-41 と GL の作用は完全には一致しなかった。例えば、cytokine mix により惹起した iNOS mRNA の発現亢進では、GL は明確な抑制作用を示したが、TJ-41 には著明な作用はなかった。また、データは示さないが、グルココルチコイド感受性の MMTV プロモーターを用いた実験で、GL は DEX による転写活性化を著明に亢進したのに対し、TJ-41 には同様の DEX の transactivation 亢進作用は認められなかった。従って、TJ-41 による抗炎症作用は GL だけに依存するのではなく、他の成分が関わっていることが示唆されたが、この点については、TJ-41 の構成生薬から甘草を除いた方剤を用いた実験など、さらに検証する必要がある。

最後に、TJ-41 の抗炎症作用の機序

として PPAR- $\alpha$  および PPAR- $\gamma$  の可能性を推定し, *in vitro* での実験によりこれを検証したが, IL-8 プロモーター抑制および iNOS mRNA 発現において TJ-41 の作用は両 PPARs のアゴニストとも一致しなかった. 従って, 本方剤の抗炎症作用の機序としては上述の GR に加え PPAR の関与も否定された.

## E. 結論

以上の成績より, TJ-41 グルココルチコイド様の抗炎症作用および炎症性サイトカイン IL-8 産生抑制作用をもつものの, その機序は GR および PPAR のどちらにも依存しないと考えられた. これらの結果は, TJ-41 の COPD に対する治療効果を薬理学的に裏付けるとともに, が抗炎症作用に繋がる GR および PPAR 以外の機序を考える上で, 興味深い材料であることを示している.

## 9. 補中益気湯の THP-1 細胞のサイトカイン分泌に及ぼす影響

### A. 研究目的

慢性閉塞性疾患(COPD)の国際的ガイドラインである GOLD(Global Initiative for Chronic Obstructive Lung disease)では、「COPD は予防と治療が可能な疾患であり、個々の患者の重症度を規定しうる、重大な全身への影響を伴う。肺病変は完全には可逆的ではない気流制限を特徴とする。この気流制限は通常進行性で、有害な粒子またはガスに対する肺の異常反応を伴う。」と定義されている。2005年の世界死因では第4位となり、COPD 罹患率の高さや医療経済における負担の大きさから世界的に研究が進められている。日本における COPD 患者数は 22 万人(1996 年厚生省調査)とされていたが、Fukuchi らの大規模疫学研究(NICE Study)では、日本全国の患者数は約 530 万人と推定された (Fukuchi Y ,et al. *Respirology*. 2004 ;9:458-65)。肺病変に対する治療薬としては、主に気管支拡張薬等の吸入薬が推奨されているが (Tashikin DP, et al: *Chest* 125:249-259, 2004)、COPD の全身への影響として現れる体重減少や栄養障害に対しての薬物治療のエビデンスは今のところ確立されていない。

補中益気湯は、約 750 年の歴史をもつ漢方薬で、中国のみならず、日本を含む近隣諸国でも幅広く使用され、食欲不振の改善や体力増強に効

果を示す薬として知られている (Makoto M, et al: *Gendai toyo igaku* 1995; 16: 501-507)。補中益気湯投与により少数例ではあるが COPD 患者の急性増悪の頻度や感冒罹患率が減少した報告があり (篠塚成順ら: 呼吸不全に関する調査研究班 2006 抄録集:27.)、補中益気湯は COPD の栄養状態・免疫機能を改善して、患者の QOL や生命予後の改善に寄与する可能性があると考えられる。補中益気湯の作用機序としては、抗ウイルス効果や栄養状態改善や全身性の炎症の改善等が推定されており、特に免疫に対する効果が注目されている。

COPD の慢性炎症には、好中球やマクロファージ等の炎症細胞が深く関係すると考えられており (Barnes PJ, Hansel TT. *Lancet*; 364(9438): 985, 2004)、本研究では特にマクロファージに注目し、補中益気湯がマクロファージに及ぼす影響を検討した。マクロファージとしては、急性単球性白血病患児末梢血より樹立され、単球としての性状を保有する事が確認されている THP-1 細胞 (Tsuchiya S, et al.: *Int. J. Cancer* 1980; 26: 171-176.) を用いた。

### B. 研究方法

#### 1. 補中益気湯液の調整

補中益気湯は(株)ツムラのエキス製剤 TJ-41 を 10%ウシ胎児血清加 RPMI-