

口投与した。投与は1週間に1回の頻度で行い、免疫期間中も週5回の頻度で漢方薬を投与した。最終免疫の1週間後に糞便、ならびに単核球を回収し、それぞれ ELISA 法と ELISPOT 法により OVA 特異的抗体反応を測定した。また同マウスの抗体産生形質細胞を IgA と CD138 をマーカーに用いたフローサイトメトリー法にて測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は東京大学医科学研究所のガイドラインに則り行った。

C. 研究結果

1. 十全大補湯や補中益気湯、黄耆建中湯を週5回の頻度でマウスに経口投与し、経口的に糞便を回収し、その中に含まれる IgA 量を ELISA 法で測定したところ、補中益気湯を投与した群で、非投与群の 1.5 倍 (2 週間投与)、約 2 倍 (4 週間投与) の IgA 産生の増強が観察された。また黄耆建中湯においても 2 週間投与において約 2 倍の IgA 産生増強が観察されたが、4 週間投与では変化が認められなかった。一方で十全大補湯投与群においては有意な差は認められなかった (図 1)。

2. 経口投与した抗原に対する特異的な免疫応答を検討する目的で、十全大補湯や補中益気湯、黄耆建中湯を 5 日間投与したマウスにモデル抗原であるニワトリ卵白アルブミン (OVA) と粘膜アジュバントであるコレラトキシンを共に経口投与した。投与は 1 週間に 1 回の頻度で行い、免疫期間中も週5回の頻度で漢方薬を投与した。最終免疫の1週間後に糞便を回収し、OVA 特異的 IgA を ELISA 法にて測定したところ、補中益気湯投与群で糞便中の OVA 特異的 IgA の約 4 倍の産生増強が観察された (図 2)。さらに同マウスにおいては血清中の OVA 特異的 IgG 産生も 2 倍に増強していた。一方で、糞便中 IgA の産生には影響を与えない十全

大補湯投与群において血清中の OVA 特異的 IgG 産生の約 2 倍の増強が認められた。同じく最終免疫の1週間後に腸管組織と脾臓から単核球を回収し、OVA 特異的抗体産生細胞数を ELISPOT 法にて測定したところ、左記の結果と相関し、補中益気湯投与群において腸管ならびに脾臓において OVA 特異的抗体産生細胞数の増加傾向が認められたが、例数が少ないため現時点では有意な差ではなかった。またフローサイトメトリーにて CD138 陽性 IgA 産生形質細胞を測定したところ、IgA 産生形質細胞の全体数には変化が認められなかった。

D. 考察

E. 結論

本検討から補中益気湯に腸管免疫の活性化を担う機能があることが判明した。漢方において「中」とは腹部を指し「補中」は「腹部を補う」という意味で補中益気湯食欲不振や胃弱に用いられている。今回の検討から、免疫学的観点からも補中益気湯が腹部 (消化管) の免疫機能を増強させることは興味深い知見であると考えられる。

腸管免疫の活性化を行うことが判明した補中益気湯を投与したマウスにおいては、自然に産生されている腸管 IgA 量だけではなく、経口ワクチンにより誘導される抗原特異的 IgA 産生においても増強作用を示すことが判明した。自然型 IgA は各種病原体に対する抵抗性を強めることが知られていることから、日常的な補中益気湯の投与により粘膜免疫を介した生体防御機能が強まることが期待される。さらに経口ワクチン投与時に補中益気湯を同時服用することで抗原特異的な免疫応答も 4 倍に増強した。このことは今後ワクチン投与時に投与する漢方アジュバントとして補中益気湯が有効であることを強く示唆する結果であると考え、今後は実際の病原体に対する生体防御反応や腸管以外での免疫応答等、より詳細

に検討していく予定である。一方で脾臓等の免疫機能を指標としたこれまでの検討から免疫調整機能があることが示されていた十全大補湯や黄耆建中湯は、腸管免疫に対してはそれほど影響を与えることはなかった。今後は補中益気湯を中心に腸管免疫に与える作用機序を分子・細胞レベルで解明していくと共に、ワクチン効果の持続や他の粘膜組織での免疫応答への影響を検討することが重要であると考えられる。

作用機序に関して、当初補中益気湯によるIgA産生促進は産生細胞の数の増加によるものと予想したが、予想に反し産生細胞数の増加はそれほど認められなかった。一方でELISPOT法による解析時に各スポットの大きさが大きくなっていることが確認された。このことは補中益気湯はIgA産生細胞を増加させるのではなく、各細胞からのIgA産生量を増加させることで腸管組織におけるIgA量を増加させていると考えられる。今後はex vivoの解析系も交え、その作用機序を明らかにすることが重要であると考えられる。

F. 健康危険情報

総括研究報告書を参照

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tokuhara D, Yuki Y, Nochi T, Kodama T, Mejima M, Kurokawa S, Takahashi Y, Nanno M, Nakanishi U, Takaiwa F, Honda T, Kiyono H.; Secretory IgA-mediated protection against *V. cholerae* and heat-labile enterotoxin-producing enterotoxigenic *Escherichia coli* by rice-based vaccine. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 8794-9, 2010
- 2) Nochi T, Yuki Y, Takahashi H, Sawada S, Mejima M, Kohda T, Harada N, Kong IG, Sato A, Kataoka N, Tokuhara D, Kurokawa

S, Takahashi Y, Tsukada H, Kozaki S, Akiyoshi K, Kiyono H., Nanogel antigenic protein-delivery system for adjuvant-free intranasal vaccines. *Nat Mater* 9:572-8, 2010

- 3) Yuki Y, Nochi T, Harada N, Katakai Y, Shibata H, Mejima M, Kohda T, Tokuhara D, Kurokawa S, Takahashi Y, Ono F, Kozaki S, Terao K, Tsukada H, Kiyono H., In vivo molecular imaging analysis of a nasal vaccine that induces protective immunity against botulism in nonhuman primates. *J Immunol* 185: 5436-43, 2010
- 4) D. Y., Kim, A. Sato, S. Fukuyama, H. Sagara, T. Nagatake, I. G. Kong, K. Goda, T. Nochi, J. Kunisawa, S. Sato, Y. Yokota, C. H. Lee, and H. Kiyono, The airway antigen sampling system: respiratory M cells as an alternative gateway for inhaled antigens. *J Immunol* 186: 4253-63, 2011
- 5) J. Kunisawa, and H. Kiyono, Analysis of intestinal T cell populations and cytokine productions. *Methods in Microbiology* (Edited by Stefan H.E. Kaufmann and Dieter Kabelitz). Academic Press, Oxford, pp. 183-193, 2010

2. 学会発表

- 1) Hiroshi Kiyono Symposium on Reduced uptake of Oral vaccines in the tropics from the perspective of mucosal immunology, "MucoRice and MucoNanogel: New Generation of Mucosal Vaccine" (Invited Lecture, June 2010, Sapporo, Japan)
- 2) Hiroshi Kiyono The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity (United states-Japan

Cooperative Medical Science Program
23rd Joint Meeting of the AIDS Panels,”
Mucosal chaperoning nanogel vaccine
for the induction of protective
immunity” (lecture, September 2010,
Awaji, Japan)

- 3) Hiroshi Kiyono 4th Vaccine and ISV
Annual Global Congress, “Mucosal
Nanogel-based chaperon vaccine for the
induction of protective immunity”
(lecture, October 2010, Vienna,
Austria)
- 4) Hiroshi Kiyono Prato Conference on
the Pathogenesis of Bacterial
Diseases of Animals, “New Prospects on
the Aerodigestive Immunity for Mucosal
Vaccine Development” (Invited lecture,
October 2010, Prato, Italy)
- 5) Hiroshi Kiyono Molecular Farming:
Promises and Challenges,” Spick-and
-Span in the development of Mucosal
Vaccine: MucoRice- and Nanogel-based
Vaccine for induction of Protective
Immunity” (Invited lecture, January
2011, Seoul, Korea)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1

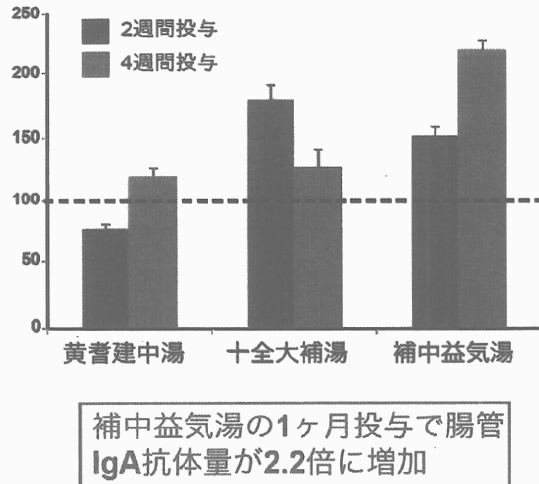


図2 各漢方薬（40 mg/head/time）を週5回の頻度で経口投与した際の糞便中IgA抗体量の相対値（コントロール群を100とする）

図2

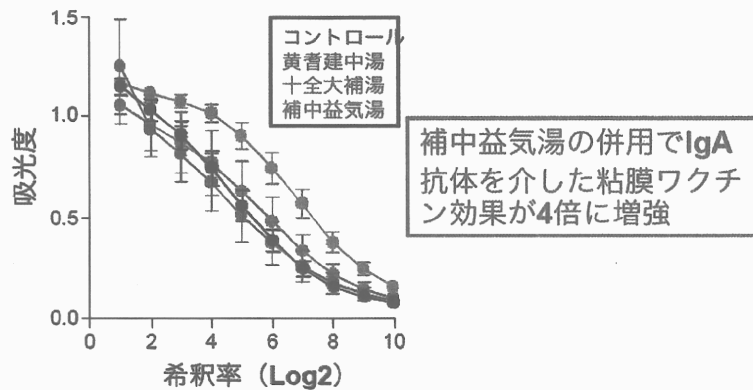


図2 各漢方薬を5日間投与したマウスに週1回の頻度でニワトリ卵白アルブミン（OVA）を粘膜アジュバントであるコレラトキシンと共に3回経口免疫した。最終免疫の1週間後に糞便を回収し、OVA特異的IgA抗体をELISA法にて測定した。その間、週5回の頻度で各漢方薬を経口投与した。

子宮頸癌前癌病変に対するヒトパピローマウイルス（HPV）治療ワクチン開発における漢方アジュバントの有効性に関する研究

研究分担者 川名 敬 東京大学医学部附属病院産科婦人科学 助教

研究要旨

ヒトパピローマウイルス（HPV）関連腫瘍細胞を免疫学的に排除することは、子宮頸癌前癌病変の新規の治療になりうる。本研究では、HPV16 型陽性の子宮頸癌前癌病変（CIN3）を有する症例に対して、乳酸菌に HPV16E7 蛋白質を提示させた治療ワクチン（GLBL101c）を経口投与させる第 I/IIa 相臨床試験において安全性とヒトでの抗原性を証明した。また、マウス実験では GLBL101c 経口投与による全身性の抗 HPV 細胞性免疫が漢方薬併用によってどのような効果を示すかを検討した。

A. 研究目的

HPV 感染を予防する HPV（予防）ワクチンが開発され、本邦でも接種が開始している。しかし、現行の HPV ワクチンは、HPV16/18 型のみを感染予防であるために、仮に学童女兒に 100%接種されたとしても子宮頸癌の 30-40%は発生する。また、既に病変を有する患者に対する治療効果はない。そこで本研究では、子宮頸癌前癌病変（以下 CIN3）の患者に対する新規の経口抗癌剤として、HPV をターゲットにした免疫誘導を行うことによる HPV 治療ワクチンを開発している。従来の手術療法（子宮頸部円錐切除術）に変わる新規の治療戦略になり得る。HPV による前癌病変を退縮させる薬物療法は存在しない。

本研究では、HPV E7 癌蛋白質を標的とした細胞傷害性 T 細胞（E7-CTL）を誘導するために、乳酸菌を利用した経口治療ワクチン GLBL101c を開発し、ヒトにおける安全性と免疫応答、臨床効果を調べつつ、HPV E7 に対する細胞性免疫にあたえる漢方アジュバ

ントの効果を検討することを目的とした。

B. 研究方法

HPV16 型 E7 が細胞表面に提示された乳酸菌 *Lactobacillus casei*（乳酸菌 E7 ワクチン：GLBL101c）の GMP 製剤を作成した。施設研究倫理委員会の承認を得て、第 I/IIa 相臨床試験を計画し、平成 21 年から臨床試験が開始している。

CIN3 患者を対象とし、GLBL101c は 1-6cap/日まで増量しながら、1 日 1 回 5 日間を 1 クールとして、1, 2, 4, 8 週の 4 クール内服した。安全性と HPV16E7 に対する細胞性免疫誘導能（末梢血リンパ球と子宮頸部リンパ球）を ELISPOT 法により解析した。粘膜免疫を優位に誘導できる経腸管投与を選択し、子宮頸部粘膜内の粘膜リンパ球を用いた。内服治療による臨床的有効性を検討するために、5, 9 週で細胞診を施行し、9 週のエンドポイントで組織診、細胞診による病理学的評価も行った。また、マウスモデルで GLBL101c 内服させることにより、粘

膜リンパ球と脾臓リンパ球における抗 E7 細胞性免疫能を評価できるので、漢方アジュバント(十全大補湯、補中益気湯、黄耆建中湯)を併用することで細胞性免疫誘導能への影響を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究にあたっては、厚生労働省等で検討されている「ヒトゲノム解析に関する共通指針」に則り、東京大学医学部の医学部研究倫理審査委員会の承認を得て、インフォームドコンセントのうえで、文書で同意を得た症例に対して研究を実施する。また、提供試料、個人情報に厳格に管理・保存する。

C. 研究結果

子宮頸部粘膜に抗 E7 細胞性免疫(E7 特異的 IFN γ 産生、GranzymeB 産生細胞)が誘導された。また子宮頸部リンパ球の約 25%は腸管粘膜由来の integrin b7+細胞であることから経口投与によって腸管粘膜を介して免疫が誘導されたと考えられる。末梢血の抗 E7 細胞性免疫よりも子宮頸部の方が優位であった。GLBL101c の投与量に依存的に抗 E7 細胞性免疫能が上昇し、また 8 週目のブースターによって細胞性免疫能が上昇した。臨床効果としては、1, 2cap/d 内服群の 4 例においては、CIN3 病変が残存し、円錐切除術を必要としたが、4cap/d 内服群では 3 例全例が CIN1-2 に退縮し、臨床的有効性が示され、手術を回避できた。

マウスモデルでは、脾臓リンパ球における抗 E7 細胞性免疫誘導能(IFN γ 産生細胞)が十全大補湯、補中益気湯併用内服群において有意に上昇した。粘膜リンパ球においては有意な誘導能の変化はなかった。

D. 考察

乳酸菌をベースに HPV16E7 癌蛋白質を発現させた抗 HPV 治療ワクチン(GLBL101c 内

服)は、癌免疫療法として新規の抗癌剤になりうる。子宮頸部における免疫学的有効性と CIN3 治療効果(奏効率)が相関していることから本治療薬による効果を見ていると考えられる。

漢方アジュバントの十全大補湯、補中益気湯は全身性細胞性免疫の誘導能を高めると考えられるが、粘膜免疫への誘導促進能は更に投与時期、投与量を検討する必要がある。

E. 結論

本研究では粘膜免疫を誘導する新しい癌免疫療法として GLBL101c を開発し、その臨床的有効性を証明しつつある。今後症例数を増やし、免疫学的有効性と言えるカットオフ値の設定、投与量の増量に伴う臨床的有効性の増強効果を検討する。GLBL101c は内服治療であり、漢方薬との併用内服が可能であることから、臨床応用の実現性がある。漢方アジュバントによる有効性を高めることが今後の展望であり基礎実験を継続している。

F. 健康危険情報

総括研究報告書を参照

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miura S, Kawana K, Schust DJ, Fujii T, Yokoyama T, Iwasawa Y, Nagamatsu T, Adachi K, Tomio A, Tomio K, Kojima S, Yasugi T, Kozuma S, Taketani Y: CD1d, a sentinel molecule bridging innate and adaptive immunity, is downregulated by the human papillomavirus (HPV) E5 protein: a possible mechanism for immune evasion by HPV. *J Virol*, 84: 11614-11623, 2010
- 2) Okuma K, Yamashita H, Kawana K, Nakagawa S, Oda K, Nakagawa K,

Advanced age is a significant determinant of poor prognosis in patients treated with surgery plus postoperative radiotherapy for endometrial cancer. *J Obstet Gynecol Res*, 36: 757-763, 2010

- 3) Shoji K, Oda K, Nakagawa S, Kawana K, Yasugi T, Ikeda Y, Takazawa Y, Kozuma S, Taketani Y. Aromatase inhibitor anastrozole as a second-line hormonal treatment to a recurrent low-grade endometrial stromal sarcoma: a case report. *Med Oncol*, Mar 31. [Epub ahead of print], 2010
- 4) Adachi K, Kawana K, Yokoyama T, Fujii T, Tomio A, Miura S, Tomio K, Kojima S, Oda K, Sewaki T, Yasugi T, Kozuma S, Taketani Y: Oral immunization with *Lactobacillus casei* vaccine expressing human papillomavirus (HPV) type 16 E7 is an effective strategy to induce mucosal cytotoxic lymphocyte against HPV16 E7. *Vaccine*, 28: 2810-2817, 2010
- 5) Yamashita H, Okuma K, Kawana K, Nakagawa S, Oda K, Yano T, Kobayashi S, Wakui R, Ohtomo K, Nakagawa K. Comparison Between Conventional Surgery Plus Postoperative Adjuvant Radiotherapy and Concurrent Chemoradiation for FIGO Stage IIB Cervical Carcinoma: A Retrospective Study. *Am J Clin Oncol*, [Jan 15, Epub.], 2010

2. 学会発表

- 1) 川名 敬ら、CIN3 に対する乳酸菌 HPV 治療ワクチン臨床試験例の免疫学的解析、日本産科婦人科学会総会、東京、4 月。
- 2) 川名 敬ら、子宮頸癌前癌病変に対す

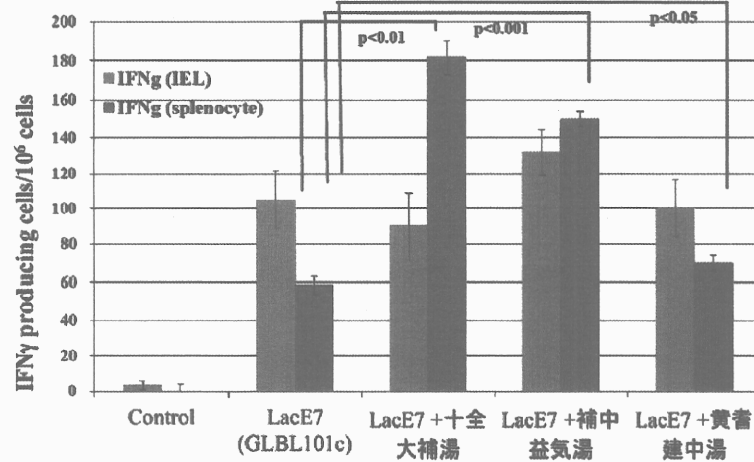
る HPV E7 を標的にした癌ワクチン療法の臨床試験における有用性、日本癌治療学会、シンポジウム 20 癌免疫療法、京都、10 月

- 3) 川名 敬ら、子宮頸がん前癌病変に対する乳酸菌を利用した HPV 治療ワクチンの第 I/IIa 相臨床試験症例における有効性の免疫学的解析、日本癌学会、大阪、9 月。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

乳酸菌HPV治療ワクチンのマウス経口投与における漢方薬のアジュバント効果



CIN3(子宮頸癌前癌病変)に対する新規治療薬として開発した乳酸菌HPV治療ワクチン(HPV16E7に対する細胞傷害活性を誘導するワクチン)の有効性を高めるための漢方アジュバントの効果のマウスモデルで検討した。

乳酸菌(LacE7: 開発名GLBL101c)単独と、3種類の漢方薬を併用投与した群(5匹ずつ)を設定し、それぞれ経口投与した。腸管粘膜リンパ球もしくは脾臓細胞を採取し、HPV16E7に対するIFN-gamma産生細胞数をELISPOT法で調べた。

漢方アジュバントにより脾臓細胞における抗HPV16E7細胞性免疫誘導が有意に上昇したが、粘膜免疫系では有意な差はみられなかった。

十全大補湯・補中益気湯の自然免疫ならびに獲得免疫に及ぼす影響に関する予備的研究

研究分担者 後藤 博三 富山大学大学院医学薬学研究部和漢診療学 准教授

研究要旨

長期療養型病床入院中の高齢者に漢方薬を投与し、多剤耐性菌や弱毒菌の除菌効果、発熱頻度、栄養状態、NK細胞活性等に及ぼす影響を漢方薬非投与症例との無作為化比較試験により検討した。

対象は長期療養型病床2施設に入院中の患者S病院26名、T病院13名。各施設において高齢者を無作為に十全大補湯エキス投与群と非投与群、補中益気湯エキス投与群と非投与群の2群に分け、12週間経過観察した。調査項目は、多剤耐性菌・弱毒菌の保菌状況、漢方薬投与開始前と内服4、8、12週後の採血によるNK細胞活性・血算・血液生化学検査、観察期間中の37.5度以上の発熱者数と発熱日数などである。その結果、十全大補湯と非投与群の比較では、開始時に比べて12週後に、NK細胞活性が非投与群で低下傾向を示した。補中益気湯と非投与群の比較では、開始時に比べて12週後に、血清Alb値が非投与群で低下傾向を示し、リンパ球数が補中益気湯エキス投与群で有意に低下した。漢方薬投与群と非投与群の比較では、開始時に比べて12週後に、リンパ球数が漢方薬投与群で有意に低下し、NK細胞活性が非投与群で低下傾向を示した。以上の結果から、漢方薬の内服によりNK細胞活性の低下抑制を認め、自然免疫系に好影響を及ぼす可能性が示唆された。

A. 研究目的

「十全大補湯・補中益気湯の自然免疫ならびに獲得免疫に及ぼす影響に関する予備的研究」において、今回我々は、自然免疫に及ぼす影響に関する検討を長期療養型病床群に入院中の高齢者を対象に実施する。長期療養型病床群に入院中の高齢者にはメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）や緑膿菌などの多剤耐性菌や弱毒菌の保菌者が散見される。これらの保菌者は新たな抗生剤使用時に常に多剤耐性菌や弱毒菌の内因性感染発症のリスクを有している。しかし、保菌者の段階での抗菌剤による除菌は、そ

の副作用や耐性菌の増加から、一律的に推奨されていない（藤田直久、EBMジャーナル、9、318-322、2008）。一方、近年漢方薬にこれら多剤耐性菌や弱毒菌保菌者の除菌効果に関する報告が散見されている（北原正和、漢方と最新治療、13、81-86、2004）。そこで、長期療養型病床入院中の高齢者に漢方薬を投与し、多剤耐性菌や弱毒菌の除菌効果、発熱頻度、栄養状態、NK細胞活性等に及ぼす影響を漢方薬非投与症例との無作為化比較試験により検討する。

B. 研究方法

1) 対象は富山県の長期療養型病床2施設(S病院、T病院)に入院中の患者S病院26名、T病院13名。対象者は65才以上で、重篤な担癌患者・感染症患者、全身状態の著しく悪化している患者は除外した。

2) 2施設において高齢者を無作為に十全大補湯エキス投与群(一日量7.5g/日)と非投与群、補中益気湯エキス投与群(一日量7.5g/日)と非投与群の2群に分け、12週間経過観察を実施した。

3) 調査項目は、年齢、身長、体重、主要疾患、主な合併症、介護度、寝たきり度、日常生活自立度の参加者の状況。多剤耐性菌・弱毒菌(MRSA、緑膿菌等)保菌者の保菌状況(鼻腔、尿、糞便、褥創等)は漢方薬投与開始前、12週後に調査し、定性により陰性化した場合を効果有と判定した。漢方薬投与開始前、内服4、8、12週後に採血を実施し、⁵¹Cr遊離法によりNK細胞活性、血算・血液生化学検査(WBC, RBC, Hb, Ht, 血小板数, 血液分画, TP, Alb, AST, ALT, LDH, ALP, γ GTP, BUN, Cr, UA, Na, K, Cl, CRP)を調査した。また、観察期間中の37.5度以上の発熱者数と発熱日数を調査した。

4) 調査項目は、mean \pm S.D.で表し、有意差検定は開始時と12週後の比較にはpaired t-test、群間の比較にはrepeated measure ANOVAを用いておこない $P < 0.05$ を有意と判定した。

(倫理面への配慮)

本研究は富山大学倫理委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

1) 十全大補湯と非投与群の比較

参加者は十全大補湯エキス投与群13名(男性5名、女性6名、平均年齢 84.6 ± 8.1 才)、非投与群13名(男性2名、女性9名、平均年齢 89.5 ± 6.2 才)であった。経過中に十全大補湯エキス投与群の2名が下血と原疾

患の悪化により内服を中止し、非投与群の2名が原疾患の増悪により経過観察が中止となった。各群の背景因子を表1に示した。開始時から12週間経過後の両群の比較では、期間中の発熱者と総日数は、十全大補湯エキス投与群で7名37日、非投与群で6名24日であった。MRSAや緑膿菌の保菌者は、十全大補湯エキス投与群で4名から5名、非投与群で2名から2名と経過した。群間では、血清Alb値、リンパ球数、NK細胞活性は差を認めなかったが、各群内の経過では、開始時に比べて12週後に、NK細胞活性が非投与群で低下傾向を示した($P=0.057$) (表2)。副作用は十全大補湯エキス投与群で軽度血清K値の低下を認めた。

2) 補中益気湯と非投与群の比較

参加者は補中益気湯エキス投与群6名(男性1名、女性5名、平均年齢 82.3 ± 6.3 才)、非投与群7名(男性4名、女性3名、平均年齢 84.6 ± 6.3 才)であった。経過中に両群とも脱落例は認めなかった。各群の背景因子を表3に示した。開始時から12週間経過後の両群の比較では、期間中の発熱者と総日数は、補中益気湯エキス投与群で6名36日、非投与群で5名15日であった。MRSAや緑膿菌の保菌者は、補中益気湯エキス投与群で1名から2名、非投与群で2名から3名と経過した。群間では、血清Alb値、リンパ球数、NK細胞活性は差を認めなかったが、各群内の経過では、開始時に比べて12週後に、血清Alb値が非投与群で低下傾向を示し($P=0.061$)、リンパ球数が補中益気湯エキス投与群で有意に低下した($P=0.0063$) (表4)。両群とも副作用は認めなかった。

3) 漢方薬(十全大補湯、補中益気湯)と非投与群の比較

上記の漢方薬(十全大補湯、補中益気湯エキス)投与群と非投与群を比較した。参加者は漢方薬投与群17名(男性6名、女性11名、平均年齢 83.8 ± 7.4 才)、非投与群

18名(男性6名、女性12名、平均年齢87.6±6.5才)であった。開始時から12週間経過後の両群の比較では、期間中の発熱者と総日数は、漢方薬投与群で13名73日、非投与群で11名39日であった。MRSAや緑膿菌の保菌者は、漢方薬投与群で5名から7名、非投与群で4名から5名と経過した。群間では、血清Alb値、リンパ球数、NK細胞活性は差を認めなかったが、各群内の経過では、開始時に比べて12週後に、リンパ球数が漢方薬投与群で有意に低下し(P=0.0014)、NK細胞活性が非投与群で低下傾向を示した(P=0.087)(表5)。

D. 考察

今回我々は、自然免疫に及ぼす影響に関する検討を長期療養型病床群に入院中の高齢者を対象に実施した。感染の指標として算出した発熱総日数は、十全大補湯、補中益気湯エキス投与群で増加していたが、非投与群と比較して統計学的な差は認められなかった。発熱症例数にはほぼ差はないことから、十全大補湯、補中益気湯エキス投与以前の期間と内服後の比較が次の検討では必要であると考えられた。

耐性菌の除菌状況も、十全大補湯、補中益気湯エキス投与群と非投与群で、ほぼ差を認めなかった。保菌者が各群とも少ないことが一因と考えられる。今後、保菌者の参加者数を増加すべきであると考えられた。

栄養状態の指標としてAlb値の経過を観察した。十全大補湯、補中益気湯エキス投与群と非投与群で有意な差がなく経過し、12週間の経過では漢方薬投与による影響は認められなかった。

リンパ球数は、各群と非投与群の比較では差を認めなかったが、各群内の経過では、開始時に比べて12週後に、補中益気湯エキス投与群と漢方薬投与群で有意な低下を認めた。いずれも1500/ μ l以上であり正常値内の変動であるが、これまで、倦怠感を主

訴とする患者に補中益気湯を3ヶ月投与し、投与前に比較して有意にリンパ球数が増加した報告(大野修嗣他、漢方と免疫・アレルギー、9、78-86、1995)など、リンパ球増加に関する報告が散見されることから、補中益気湯投与時のリンパ球数の変動に関しては、症例数を追加した臨床研究の実施による検討を要すると考えられた。

NK細胞活性は、各群と非投与群の比較では差を認めなかった。各群内の経過では、開始時に比べて12週後に漢方薬投与群では変化を認めなかったが、非投与群で低下傾向が認められた。今回用いた十全大補湯と補中益気湯は漢方薬の中でも補剤という位置づけで、これまでも自然免疫系の増強作用が報告されている。大野は慢性疾患患者35名に補中益気湯を4週間投与し、NK細胞活性が24.6%から30.4%に有意に増加したと報告している(大野修嗣、アレルギー、37、107-114、1988)。また、増田らもNK細胞活性低値群と正常群に補中益気湯と柴胡加竜骨牡蛎湯を8週間投与したところ、4週後には両群ともNK細胞活性が開始時に比べて有意に増加し、8週後には、正常群のみ有意に増加したと報告している(増田彰則他、漢方診療、14、26-29、1995)。今回の検討では、漢方薬投与によりNK細胞活性は増加を認めなかったが、漢方薬非投与群で低下傾向を示したことから、NK細胞活性低下抑制効果が示唆された。今後症例数の追加と関連するサイトカインの測定により作用機序の検討を実施する予定である。

E. 結論

長期療養型病床群に入院中の高齢者に十全大補湯エキスと補中益気湯エキスを12週間投与し、非投与群と比較検討した。その結果、漢方薬投与群でNK細胞活性の低下抑制を認め、自然免疫系に好影響を及ぼす可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

総括研究報告書を参照

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

表1 十全大補湯エキス投与群 (J群) と非投与群 (N群) の背景因子

群	性別		平均年齢 (才)	主要原疾患			介護度	
	男	女		脳血管障害	認知症	骨関節疾患	4	5
J	5	6	84.6±8.1	7	9	3	1	10
N	2	9	89.5±6.2	5	11	5	2	9

(mean±S. D.)

表2 十全大補湯エキス投与群 (J群) と非投与群 (N群) の測定項目の比較

項目	群	0-4週	4-8週	8-12週	総計	群内比較	群間比較
発熱日数 (日)	J	12	14	11	37		
	N	7	5	12	24		
		開始時	4週	8週	12週		
Alb値 (g/dl)	J	3.0±0.5	3.1±0.6	3.1±0.6	3.1±0.7	P=0.81	P=0.58
	N	3.2±0.4	3.2±0.4	3.2±0.5	3.2±0.5	P=0.79	
リンパ球数 (/μl)	J	1730±573	1698±616	1664±548	1671±454	P=0.33	P=0.15
	N	1916±525	1806±530	2058±694	2190±963	P=0.92	
NK細胞活性 (%)	J	39.7±15.3	54.0±17.9	51.9±21.6	54.8±15.1	P=1.00	P=0.98
	N	51.5±21.6	50.0±23.5	55.0±24.1	44.5±25.1	P=0.057	

(mean±S. D.)

表3 補中益気湯エキス投与群 (H群) と非投与群 (N群) の背景因子

群	性別		平均年齢 (才)	主要原疾患			介護度		
	男	女		脳血管障害	認知症	骨関節疾患	3	4	5
H	1	5	82.3±6.3	5	3	0	0	2	4
N	4	3	84.6±6.3	6	2	0	1	2	4

(mean±S. D.)

表4 補中益気湯エキス投与群 (H群) と非投与群 (N群) の測定項目の比較

項目	群	0-4週	4-8週	8-12週	総計	群内比較	群間比較
発熱日数 (日)	H	7	8	21	36		
	N	3	9	3	15		
		開始時	4週	8週	12週		
Alb値 (g/dl)	H	3.5±0.5	3.6±0.6	3.4±0.4	3.4±0.5	P=0.27	P=0.38
	N	3.3±0.5	3.4±0.5	3.1±0.5	3.2±0.4	P=0.061	
リンパ球数 (/μl)	H	2296±528	2045±373	1735±502	1501±320	P=0.0063	P=0.24
	N	1720±703	1309±685	1532±688	1597±742	P=0.27	
NK細胞活性 (%)	H	35.3±18.5	36.3±17.4	42.8±17.5	41.0±20.0	P=0.93	P=0.17
	N	25.0±13.2	23.6±14.7	28.0±19.1	25.6±15.9	P=0.57	

(mean±S. D.)

表5 漢方薬投与群 (K群) と非投与群 (N群) の測定項目の比較

項目	群	0-4週	4-8週	8-12週	総計	群内比較	群間比較
発熱日数 (日)	K	19	22	32	73		
	N	10	14	15	39		
		開始時	4週	8週	12週		
Alb 値 (g/dl)	K	3.3±0.4	3.4±0.5	3.3±0.4	3.1±0.5	P=0.47	P=0.35
	N	3.1±0.5	3.2±0.6	3.1±0.5	3.1±0.6	P=0.53	
リンパ球数 (/μl)	K	2015±603	1845±537	1620±529	1525±278	P=0.0014	P=0.74
	N	1907±622	1561±681	1777±739	1972±834	P=0.67	
NK細胞活性 (%)	K	38.1±16.1	47.8±19.2	48.7±15.7	49.9±17.7	P=1.00	
	N	41.2±22.1	39.7±24.0	44.5±25.6	37.2±23.5	P=0.087	P=0.42

(mean±S. D.)

ワクチンアジュバント効果調査表(2010年度版)

患者背景

性別	1.男 2.女
生年月日	10 年 月 日
年齢	才
身長	cm
体重	kg
施設入籍日	年 月 日
主要病歴	1.肥血質異常 2.認知症 3.骨・関節疾患 4.心疾患 5.その他()
主な合併症 (おたは記入)	1.高血圧 2.糖尿病 3.高脂血症 4.虚血性心疾患 5.その他()
常用薬	1.ステロイド剤 2.抗凝固薬 3.その他薬名に答を以て記入()

介護度・日常生活の自立度

介護度	1 2 3 4 5
認知度	A1 A2 B1 B2 C1 C2
日常生活自立度	I IIa IIb IIIa IIIb IV a)

調査票()投与の有無

1.なし	投与開始日	2010 年 月 日
2.あり(右記入)	投与終了日	14日

ワクチンアジュバント効果調査票

(2010年度版)

アジュバントの種類	
カルチ No.	
イニシャル(姓)	/
施設名	
担当医師名	

副作用（有(下記へ)記載）、無

副作用	発症日付(初発)	発症経過	発症時の状態
1. 頭痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
2. 吐瀉	月 日 時	2→不眠症	
3. 足の痺	月 日 時	1→不眠症	
4. 全身倦怠感	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
5. 口の痺	月 日 時	1→不眠症	
6. 腰痛(右側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
7. 足の痺	月 日 時	1→不眠症	
8. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
9. 足の痺	月 日 時	1→不眠症	
10. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
11. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
12. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
13. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
14. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
15. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
16. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
17. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
18. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
19. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
20. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
21. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
22. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
23. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
24. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
25. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
26. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
27. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
28. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
29. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
30. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
31. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
32. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
33. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
34. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
35. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
36. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
37. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
38. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
39. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
40. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
41. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
42. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
43. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
44. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
45. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
46. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
47. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
48. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
49. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
50. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
51. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
52. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
53. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
54. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
55. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
56. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
57. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
58. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
59. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
60. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
61. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
62. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
63. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
64. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
65. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
66. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
67. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
68. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
69. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
70. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
71. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
72. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
73. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
74. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
75. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
76. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
77. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
78. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
79. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
80. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
81. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
82. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
83. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
84. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
85. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
86. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
87. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
88. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
89. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
90. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
91. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
92. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
93. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
94. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
95. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
96. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
97. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
98. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5
99. 腰痛(右側)	月 日 時	1→不眠症	
100. 腰痛(左側)	月 日 時	2→不眠症	1, 2, 3, 4, 5

中止・服薬 月 日
 1. 服用中止 2. 処方中止 3. 服用中止の理由
 4. その他

安全性(副作用発生回数)および不感症(副作用発生回数)について
 1. 安全である(副作用発生回数)
 2. 安全性のある(副作用発生回数)が、副作用には影響がなかった。
 3. 安全性に問題がある(副作用発生回数)が、副作用には影響がなかった。
 4. 安全でない(副作用発生回数)が、副作用には影響がなかった。
 コントロール(副作用発生回数)は、副作用発生回数に比べて少ない。

漢方薬によるワクチンアジュバント効果の検討と臨床応用： RA 患者におけるインフルエンザワクチン予防接種後の 免疫応答の経過観察

研究分担者 小暮 敏明 社会保険群馬中央総合病院和漢診療科 部長

研究要旨

RA 患者では、インフルエンザワクチン予防接種の疾患活動性に及ぼす影響ならびに感染症予防効果が現在でも議論されている。そこで漢方薬を服用している RA 患者においてインフルエンザワクチン免疫応答がいかなる Profile を呈しているかを明らかにすることを目的とした。本院 IRB で承認を受け、45 例の漢方薬を投与されている RA を対象として 2010 年 9-12 月にかけて実施した。その結果、TAC ならびに MTX 投与 RA では、過去の報告と比較して陽性化率が高い傾向にあった。しかしながら Biologics 投与例では陽性化率は低く多数例での検討が必要である。平成 23 年度には長期的な抗体価の推移ならびに補剤の追加投与による影響を明らかにする予定である。

A. 研究目的

漢方薬を服用している RA 患者においてインフルエンザワクチン免疫応答がいかなる Profile を呈しているか明らかにする。

B. 研究方法

・対象：社会保険群馬中央総合病院和漢診療科を受診して漢方薬を服用している RA 患者。

・デザイン：インフルエンザワクチン接種前・接種後 4 週に評価項目を観察する。

（治療に関しては介入しない）

・評価項目：・DAS28 (Disease activity score 28joint) ・血液・生化学的検査・RA に関する血清学的検査・インフルエンザ抗体 (HI)

・観察後の評価：

Biologics・TAC・MTX 等の抗リウマチ薬（免疫抑制剤）投与の有無で後層別解析を実施する。

（倫理面への配慮）

本研究にあたっては、厚生労働省等で検討されている「臨床研究に関する共通指針」に則り、群馬大学臨床試験部の指導のもと本院研究倫理審査委員会の承認を得て、インフォームドコンセントのうえで、文書で同意を得た症例に対して研究を実施した。また、提供試料、個人情報厳格に管理・保存する。

C. 研究結果

漢方薬（桂枝二越婢一湯加苓朮附 23 名、大防風湯 10 名、桂枝芍薬知母湯 6 名、その他 6 名：それぞれ加減方含む）を投与されている RA 患者 45 名 (m/f=3/42; Age: 56.3+/-13.5) に対してインフルエンザワクチンを接種し、その抗体価について前後比較を実施した。投与されていた西洋薬は、

Biologics5名、MTX23名（Biologicsを投与されていた患者は除く）、TAC4名、その他のDMARDsのみ16名であった。インフルエンザ抗体価（A: H1N1, H3N2, B: H1）が40倍以上を陽性（Assen sv. et al. Arthritis Rheum 62: 2010）として、その陽性率を各治療群で解析した。結果をTable 1-4に示した。

D. 考察

過去の報告と比較すると漢方薬を服用しているRA患者では十分なインフルエンザワクチン接種効果が得られていた。特にMTXならびにTAC投与群においても同様であった。Seroprotectionに関しては過去の報告と同様あるいはそれ以上であったが、Baselineのtiterが今回の対象群では低かった。したがって漢方薬服用RA患者ではSeroconversionにおいて特に意義があることが示唆された。来年度以降は、長期間でのTiterの変化、さらに薬剤の影響等について詳細に検討を加える必要があると考えている。

E. 結論

漢方薬を服用しているRA患者では、特にMTXで治療されている患者において、Seroconversion, Seroprotectionに関して好影響を及ぼしている可能性が示唆される。

F. 健康危険情報

総括研究報告書を参照

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

- 1) 第1回群馬臨床漢方懇話会を開催
(H23.1.21) 基調講演「インフルエンザと漢方薬」 巽武司。特別講演「呼吸

器疾患への漢方薬の臨床応用」伊藤隆。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Table 1: Titers of antiinfluenza antibodies for each influenza strain in the all RA patients (n=45) group

	A/H1N1		A/H3N2		B/H1	
week	0	4	0	4	0	4
40<	7	24	4	21	4	13
40< (%)	15.6	53.3	8.9	46.7	8.9	28.9

Table 2: The titers of each antiinfluenza antibody in MTX-treated group (n=23)

	A/H1N1		A/H3N2		B/H1	
week	0	4	0	4	0	4
40<	4	15	2	11	3	9
40< %	17.4	65.2	8.7	47.8	13.0	39.1

Table 3: The titers of each antiinfluenza antibody in Biologics-treated group (n=5)

	A/H1N1		A/H3N2		B/H1	
week	0	4	0	4	0	4
40<	0	0	0	1	0	1
40< %	0.0	0.0	0.0	20.0	0.0	20.0

Table 4: The titers of each antiinfluenza antibody in TAC-treated group (n=4)

	A/H1N1		A/H3N2		B/H1	
week	0	4	0	4	0	4
40<	1	3	0	2	1	3
40< %	25.0	75.0	0.0	50.0	25.0	75.0