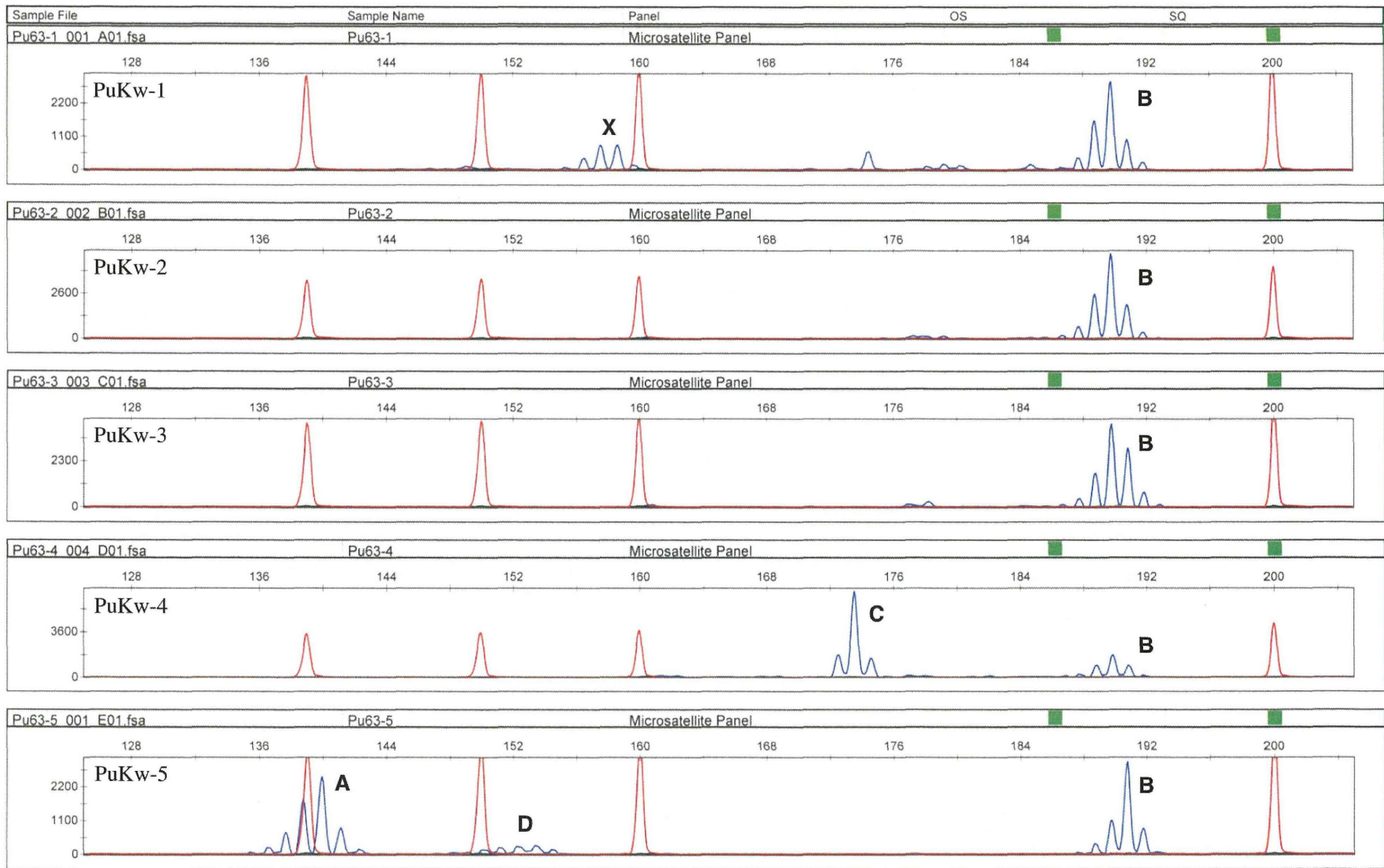


Fig. 2 Electropherograms on genotyping of the commercial Pueraria Roots



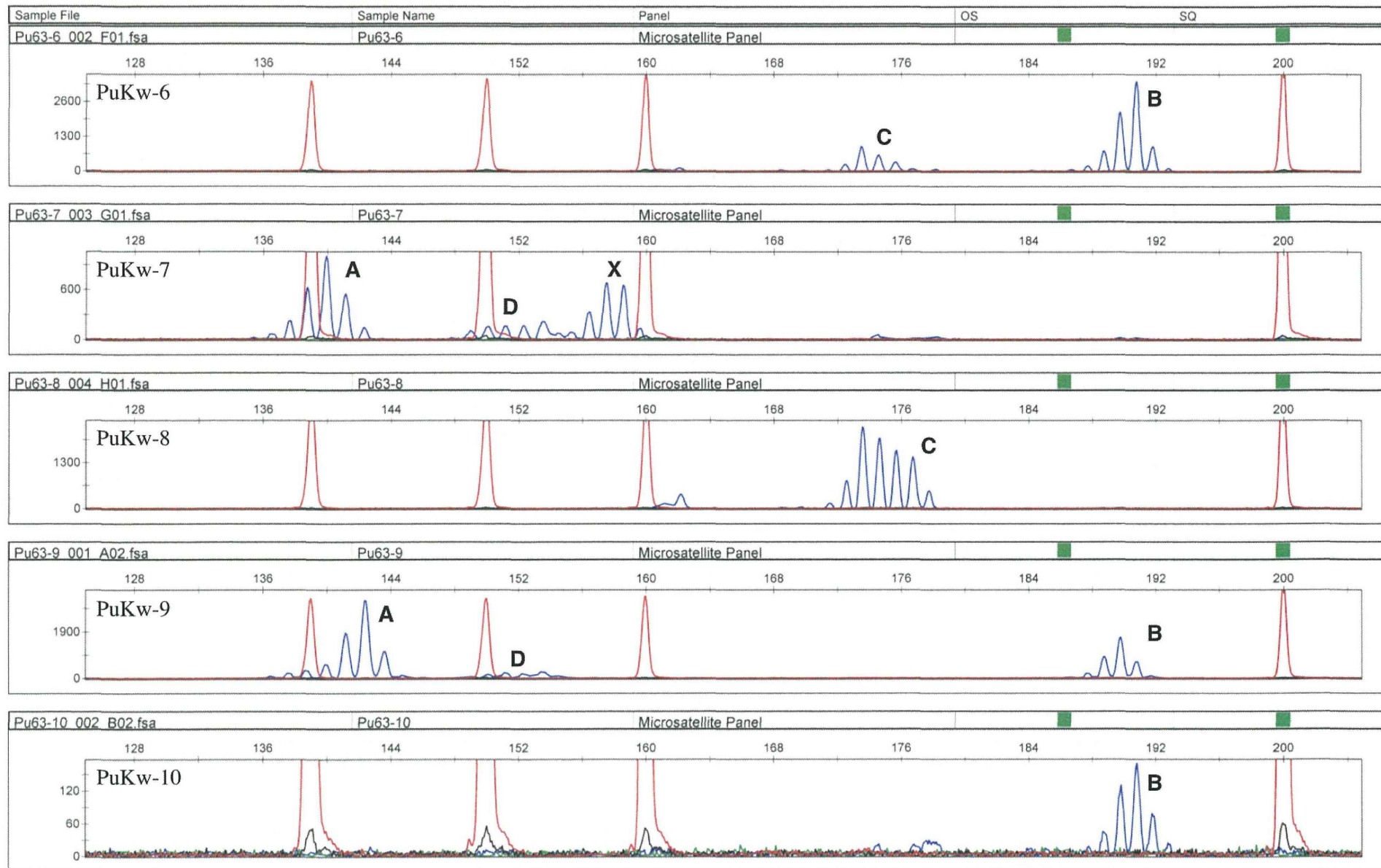


Fig. 2 Continued

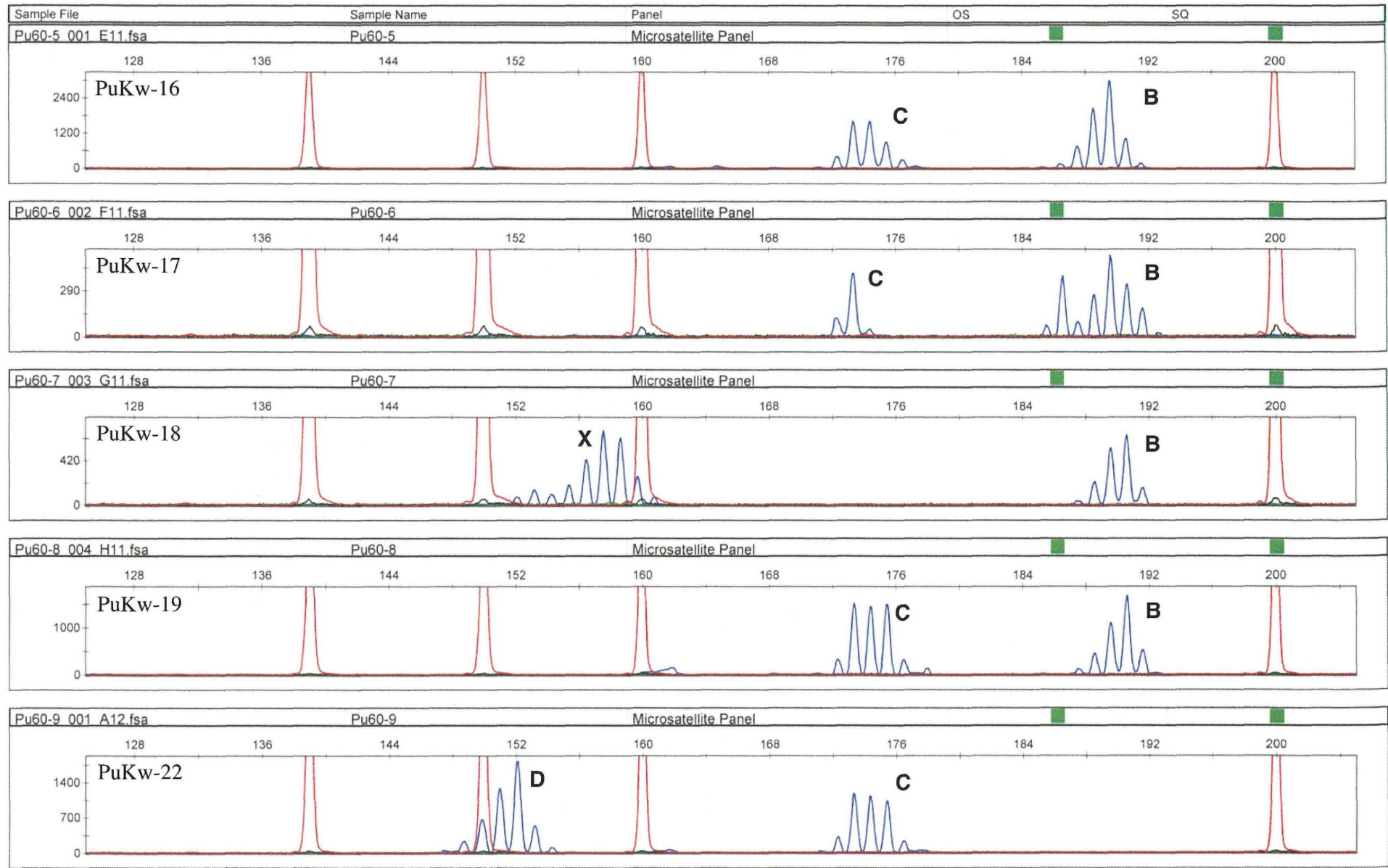


Fig. 2 Continued

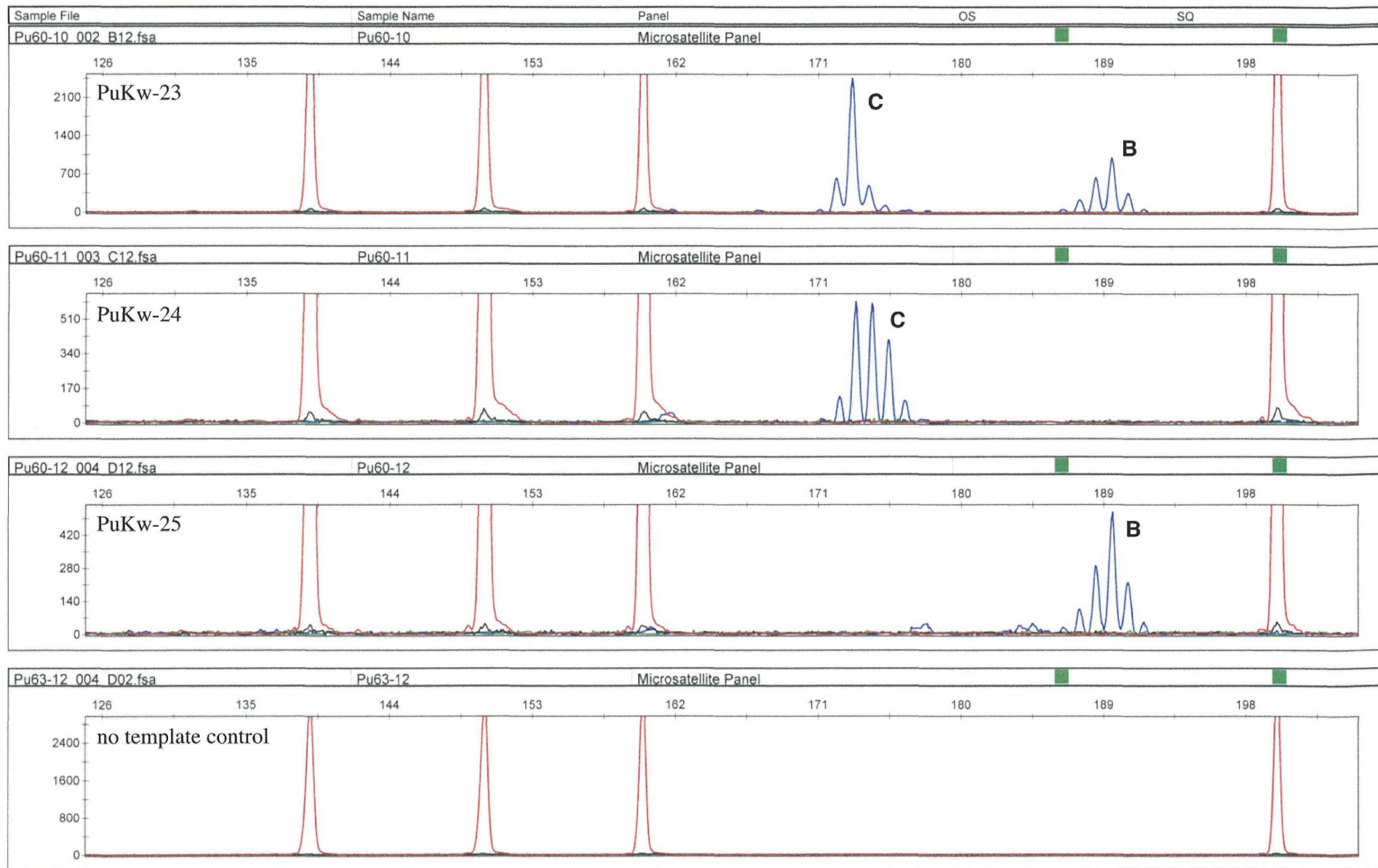


Fig. 2 Electropherograms on genotyping of the commercial Pueraria Roots

DQ302154	A A A T T A G C G A T - - - - - A A C A A C A A A A - - - - -	155
DQ302155	156
DQ302156	157
DQ302157	156
DQ472521	157
DQ472522	157
DQ472519	. T . A C . . T A G . T T T C T A G C G . G . G G . G G . G T C G G A A C G A G	198
DQ472520	. T . A G . . T A G . T T T C T A G C G . G . G G . G G . G T C G G A A C G A G	197
DQ485980	. T . A G . . T A G . T T T C T A G C G . G . G G . G G . G T C G G A A C G A G	198
DQ302150	. T . A G . . T A G . T T T C T A G C G . G . G G . G G . G T C G G A A C G A G	182
DQ302151	. T . A G . . T A G . T T T C T A G C G . G . G G . G G . G T C G G A A C G A G	182
DQ302152	. T . A G . . T A G . T T T C T A G C G . G . G G . G G . G T C G G A A C G A G	183
DQ302153	. T . A G . . T A G . T T T C T A G C G . G . G G . G G . G T C G G A A G G A G	183
DQ485981	. T . A G . . T A G . T T T C T A G C G . G T G G . G G . G T C G G A A C G A G	161
DQ472523 T A T A T A A - G A G	164
DQ485982 C T A T A T A A - G A G	158
← Pue-5S-AS1		
DQ302154	- - - - - T G T T G A T G T A T T G T G G G C C C C G T G G C T C T T T C G G T	190
DQ302155	- - - - -	191
DQ302156	- - - - -	192
DQ302157	- - - - - A	191
DQ472521	- - - - -	192
DQ472522	- - - - -	192
DQ472519	C T T T C	238
DQ472520	C T T T C	237
DQ485980	C T T T C	238
DQ302150	C T T T C	222
DQ302151	C T T T C	222
DQ302152	C T T T C	223
DQ302153	C T T T C	223
DQ485981	C T T T C	201
DQ472523	C T T T C	204
DQ485982	C T T T C	198
DQ302154	A T T G A A A G T T A G G T T G G C A A G A A G G A A T A C A G C A A T T G A T	230
DQ302155	231
DQ302156	232
DQ302157	231
DQ472521	232
DQ472522	232
DQ472519 C . T T . T	278
DQ472520 C T . T	277
DQ485980 C T . T	278
DQ302150 C T . T	262
DQ302151 C T . T	262
DQ302152 C T . T	263
DQ302153 C T . T	263
DQ485981 C T . T . C	241
DQ472523 T	244
DQ485982 T	238
DQ302154	T G C G C A A G A C T T A A C A G G T G C G A T C A T A C C A G C A C T A A	268
DQ302155	269
DQ302156	270
DQ302157	269
DQ472521	269
DQ472522	269
DQ472519	316
DQ472520 T A	314
DQ485980	316
DQ302150	300
DQ302151	300
DQ302152	301
DQ302153	301
DQ485981	279
DQ472523	282
DQ485982	275

Fig. 3 Continued

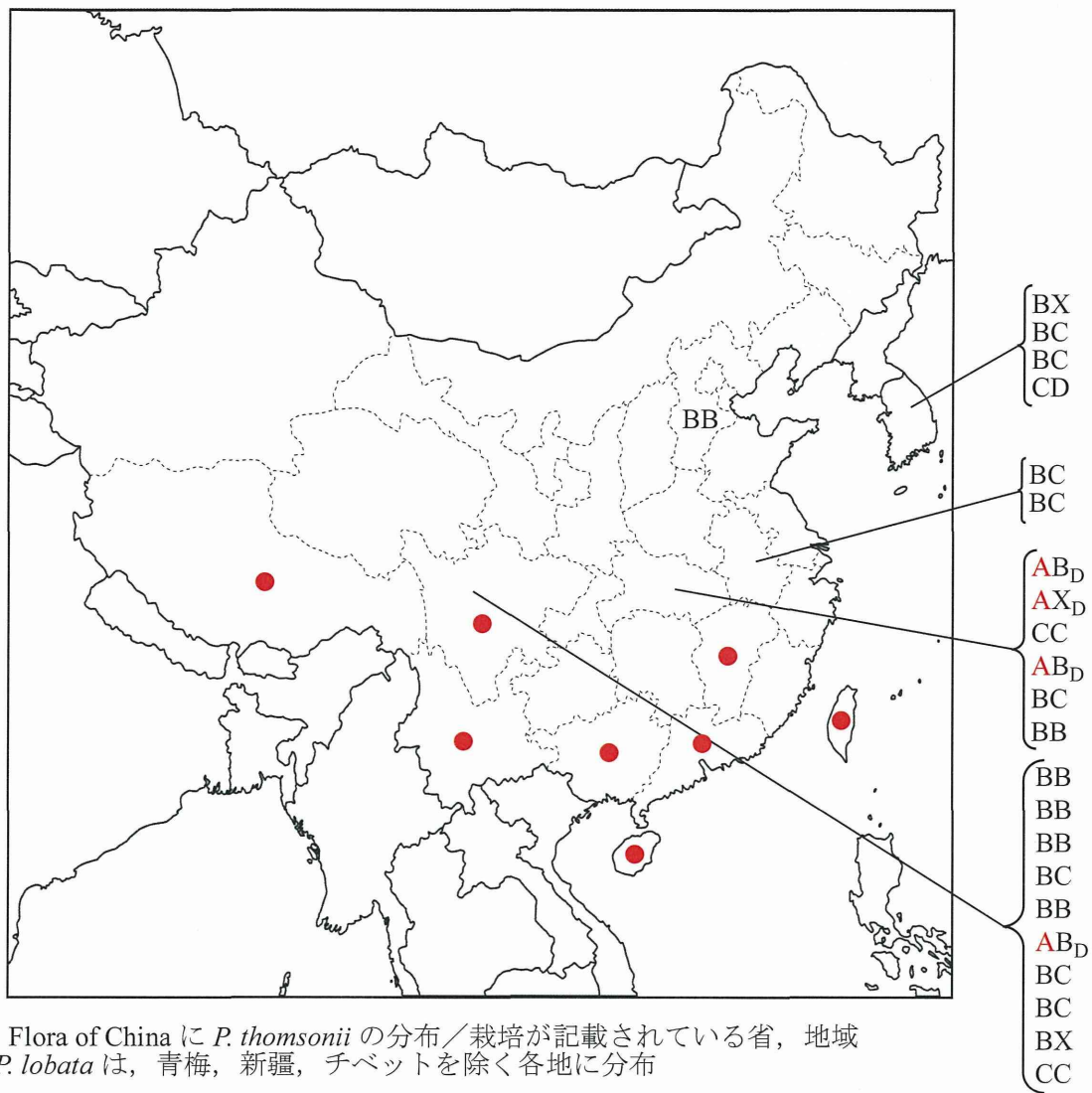


Fig. 4 Distribution map of each 5S rDNA IGS genotype found in this study

平成24年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベース構築のための
基盤整備に関する研究（H22-創薬総合-一般-013）
分担研究報告書

研究分担課題 成分分析データ、遺伝子鑑別情報及び漢方処方関連情報に関する研究

研究分担者 合田幸広 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 部長

漢方処方構成生薬の水煎出エキス収量に関する研究

研究協力者 袴塚高志 国立医薬品食品衛生研究所生薬部室長

牛膝、大黄、白朮、麻黄及び茯苓に関して、5つの主要生薬メーカー局方規格製品について水煎出のエキス収量を測定したところ、前4者のばらつきは小さかったが、茯苓については変動係数（相対標準偏差）が27.96と大きなばらつきを示した。また、生姜については、中国雲南省の様々な産地に由来する生薬原料についてエキス収量を測定したところ、同じ省であっても産地の違いによりエキス収量のばらつきは大きいことが分かった。

A. 研究目的

漢方製剤の原料である生薬は天然物であるため、採集と栽培の違い、天候、産地、収穫時期等により成分含量がばらつきやすく、また、乾燥や貯蔵の方法が適切でないとカビや虫の被害を受けることがあり、指定部位以外の部位やその他の異物等が混入しやすく、合成化合物とは異なる観点で品質確保を考える必要がある。

本研究事業では、漢方薬に使用される薬用植物の情報データベースの構築を行うが、その一環として、産地や収穫時期等の異なる様々な生薬原料について、形態学、理化学、分析化学、生化学、薬理学、分子遺伝学等の種々の観点から実測データを付加し、総合的に生薬サンプルの分類を進めている。

今回我々は、本研究事業において平成24年度の重点検討生薬（コア生薬）の中から、牛膝、大黄、白朮、麻黄及び茯苓を取り上げ、5つの主要生薬メーカー局方規格製品についてエキス収量を測定した。さらに、生姜については、中国雲南省の様々

な産地に由来する生薬原料についてエキス収量を測定した。

B. 研究方法

植物材料

局方生薬のエキス収量測定においては、牛膝、大黄、白朮、麻黄及び茯苓に関して、国内主要生薬メーカー5社（A社、B社、C社、D社及びE社と仮称）より日本薬局方規格品で漢方処方調剤用の刻み生薬を購入して用いた。また、生薬原料のエキス収量測定においては、生姜に関して、医薬基盤研究所薬用植物資源センターが収集したものを用いた。煎出用の水は、Milli-Q Synthesis（Milipore）により調製した超純水を用いた。

機器

生薬あるいは生薬原料を煎じる際には、ウチダ和漢薬製のらくらく煎を用い、煎出液の凍結乾燥はFREEZE DRYER FDU-830（東京理化工械）を用いて行った。生薬の粉末化には、Vibrating Sample

Mill TI-200 (HEIKO 製作所) を用いた。

局方生薬煎出エキスの調製と収量測定

牛膝、大黄、白朮、麻黄あるいは茯苓について、刻み生薬 20 g をポット (らくらく煎) に取り、400 mL の水で半量になるまで煎じた。得られた煎出液を 3000 rpm で 5 分間遠心し、上澄液をあらかじめ重量を計ったナス型フラスコに入れ、-45°C で予備凍結させた後、一晚凍結乾燥させてエキスを調製した。エキス収量は、凍結乾燥後のフラスコの重量からフラスコ自体の重量を差し引くことで算出した。

生薬原料煎出エキスの調製と収量測定

生姜の生薬原料サンプルについて、原形のものにはハサミで 5~10mm に切り刻んだ。刻んだサンプルを Vibrating Sample Mill で粉砕した。粉末サンプル 20 g をポット (らくらく煎) に取り、400 mL の水で半量になるまで煎じた。得られた煎出液を 3000 rpm で 5 分間遠心し、上澄液をあらかじめ重量を計ったナス型フラスコに入れ、-45°C で予備凍結させた後、一晚凍結乾燥させてエキスを調製した。エキス収量は、凍結乾燥後のフラスコの重量からフラスコ自体の重量を差し引くことで算出した。

倫理面への配慮

本研究はいずれも動物等の倫理面を考慮すべき研究材料は使用しない。

C. 研究結果

局方生薬のエキス収量

局方生薬として流通する牛膝、大黄、白朮、麻黄及び茯苓に関して、それぞれの 20 g に相当するエキス収量を測定し、生薬重量あたりのエキス収率を表 1 に示した。また、5 社の平均値を 100 とした場合の相対値も示した。

それぞれの生薬について会社間の変動係数 (相対標準偏差) を算出したところ、牛膝、大黄、白朮及び麻黄は 10% 前後に収まった。しかし、茯苓

については変動係数が 27.96 を示し、大きなばらつきが観察された。

甘草生薬原料のエキス収量

医薬基盤研究所薬用植物資源センターが収集した生姜生薬原料は、原形のものと同様のものがあつたため、抽出効率を揃える目的で、全サンプルについて粉末化した後に煎出した。それぞれの粉末 20 g に相当するエキス収量を測定し、生薬原料重量あたりのエキス収率を表 2 に示した。9 種類の生薬原料におけるエキス収率の変動係数は、34.4 であった。また、一方、同じサンプルを 3 回測定する中での変動係数はいずれも 10 以下であり、同じ生薬原料に関する測定間のばらつきは小さいことが分かった。

D. 考察

漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベースに実測データを付加する目的で、前年度までに行った黄芩、甘草、生姜、蒼朮、人参、黄连、桂皮、地黄、芍薬及び当帰に加えて、牛膝、大黄、白朮、麻黄及び茯苓に関して、5 つの主要生薬メーカーの局方規格製品についてエキス収量を比較した (表 1)。牛膝、大黄、白朮及び麻黄については、メーカー間のばらつきは小さかったが、茯苓が突出して大きなばらつきを示した。茯苓はエキス収率が平均して 1.02% と極めて低く、また、同一サンプルの試行間偏差 ($n=3$) も大きかったことから、サンプリングの偏りや手技・操作の揺れに大きく影響を受けたものと考えられた。

また、規格化されていない生姜の生薬原料について、9 種類のサンプルのエキス収量を測定したところ、9 検体の平均収率は 12.0% であり、これは平成 22 年度に測定した局方生姜の国内主要 5 メーカーの平均値 (8.79%) よりも大きな値を示した。刻みの NIB060 及び NIB-075 が 4.3% 及び 7.3% と極端に低い値を示したが、同じ刻みである NIB-110 は 16.9% と高い収率を示し、ばらつきのは大きさは生薬の形態による差が反映されたものではないことが分かった。

E. 結論

本研究事業において平成 24 年度の重点検討生薬（コア生薬）に指定された牛膝、大黄、白朮、麻黄及び茯苓に関して、5 つの主要生薬メーカー局方規格製品についてエキス収量を測定した。茯苓を除き、いずれも会社間のばらつきは小さかったが、茯苓はエキス収率自体が小さいため、他に比べて大きなばらつきが観察された。

生姜については、様々な産地に由来する生薬原料についてエキス収量を測定し、同じ省内であっても、産地などの環境の影響を受けやすい生薬であることが分かった。

F. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 渥美さやか、高橋豊、寺坂和祥、水上元、橋井則貴、袴塚高志、川原信夫、合田幸広：イオンモビリティ分離技術を利用した生薬中の異性体成分の構造推定法に関する研究. 日本薬学会第133年会（2013, 3/28-30, 横浜）

2. 誌上発表

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

表1 生薬メーカー主要5社における平成24年度担当生薬の凍結乾燥エキス収率^{a)}

生薬		A社	B社	C社	D社	E社	会社間 平均	会社間 変動係数
ゴシツ	1回目収率 [%]	44.35	53.00	57.05	44.25	40.10		
	2回目収率 [%]	47.25	54.50	57.70	45.30	44.55		
	3回目収率 [%]	39.10	48.55	50.45	41.85	38.00		
	平均収率 [%]	43.57	52.02	55.07	43.80	40.88	47.07	11.62
	変動係数	7.74	4.86	5.95	3.30	6.68	5.70	
	相対値 ^{b)}	92.56	110.52	117.00	93.06	86.86	100.00	
ダイオウ	1回目収率 [%]	21.35	19.75	23.75	21.90	25.80		
	2回目収率 [%]	22.75	18.20	24.45	19.90	24.80		
	3回目収率 [%]	22.40	17.45	24.30	22.50	25.20		
	平均収率 [%]	22.17	18.47	24.17	21.43	25.27	22.30	10.56
	変動係数	2.68	5.19	1.25	5.19	1.63	3.03	
	相対値 ^{b)}	99.40	82.81	108.37	96.11	113.30	100.00	
ビヤクジュツ	1回目収率 [%]	41.45	33.80	47.70	37.35	42.45		
	2回目収率 [%]	40.95	34.80	36.00	36.25	43.20		
	3回目収率 [%]	42.85	34.40	35.90	36.40	42.00		
	平均収率 [%]	41.75	34.33	39.87	36.67	42.55	39.03	7.95
	変動係数	1.93	1.20	13.89	1.33	1.16	3.90	
	相対値 ^{b)}	106.96	87.96	102.13	93.94	109.01	100.00	
ブクリョウ	1回目収率 [%]	1.60	1.50	0.95	0.95	1.40		
	2回目収率 [%]	1.15	1.25	0.35	0.90	0.60		
	3回目収率 [%]	1.25	1.40	0.65	0.80	0.60		
	平均収率 [%]	1.33	1.38	0.65	0.88	0.87	1.02	27.96
	変動係数	14.47	7.43	37.68	7.06	43.51	22.03	
	相対値 ^{b)}	130.29	135.18	63.52	86.32	84.69	100.00	
マオウ	1回目収率 [%]	13.25	11.25	14.35	13.80	15.15		
	2回目収率 [%]	15.20	11.90	16.15	13.20	13.35		
	3回目収率 [%]	11.90	10.05	14.20	11.05	11.50		
	平均収率 [%]	13.45	11.07	14.90	12.68	13.33	13.09	9.50
	変動係数	10.07	6.92	5.95	9.31	11.18	8.69	
	相対値 ^{b)}	102.78	84.56	113.86	96.92	101.88	100.00	

a) 変動係数において10を超えるものは着色

b) 会社間平均収率を100とした場合の各社の平均収率の相対値

表2 ショウキョウ生薬原料の凍結乾燥エキス収率

通し 番号	NIBIO 管理番号	産地	形態	凍結乾燥	エキス収率 (%)	平均収率 (%)	収率 標準偏差	収率 変動係数
1	NIB-008	雲南省	原形	1回目	13.1	13.4	1.02	7.6
				2回目	14.8			
				3回目	12.4			
2	NIB-039	雲南省	原形	1回目	9.3	10.1	0.54	5.3
				2回目	10.6			
				3回目	10.3			
3	NIB-055	雲南省	原形	1回目	10.1	10.8	0.74	6.9
				2回目	10.4			
				3回目	11.8			
4	NIB-060	雲南省	刻み	1回目	4.4	4.2	0.34	8.1
				2回目	3.8			
				3回目	4.5			
5	NIB-075	雲南省	刻み	1回目	7.5	7.3	0.38	5.2
				2回目	6.8			
				3回目	7.7			
6	NIB-091	雲南省	スライス	1回目	18.1	16.3	1.40	8.6
				2回目	16.0			
				3回目	14.7			
7	NIB-110	雲南省	刻み	1回目	16.5	16.9	0.83	4.9
				2回目	18.1			
				3回目	16.1			
8	NIB-147	雲南省	原形	1回目	16.7	15.6	0.78	5.0
				2回目	15.0			
				3回目	15.1			
9	NIB-169	雲南省	原形	1回目	13.0	13.1	0.57	4.4
				2回目	12.6			
				3回目	13.9			
9検体平均収率(%)					12.0			
9検体収率標準偏差					4.1			
9検体収率変動係数					34.4			

平成24年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベース構築のための
基盤整備に関する研究（H22-創薬総合-一般-013）
分担研究報告書

研究分担課題 生物活性情報及び成分分析データ情報に関する研究

研究分担者 富山大学和漢医薬学総合研究所 所長 済木 育夫

がん細胞増殖試験、NF- κ B 活性化試験及び IL-6 産生試験

研究協力者 富山大学大学院医学薬学研究部がん細胞生物学 櫻井 宏明

提供された各生薬について、それぞれ各ロットから等量ずつ混合した標準ロットを作製しアッセイを実施し、有効性の認められた生薬について各ロットの試験を実施することとしている。本年度は、センキュウ、ソヨウ、およびブクリョウの標準ロットを用いて、がん細胞増殖試験、NF- κ B 活性化試験および IL-6 産生試験を実施した。その結果、NF- κ B 活性化試験ではセンキュウとブクリョウが抑制傾向を示したが、がん細胞増殖試験と IL-6 産生試験では活性は認められなかった。

A. 研究目的

本研究は、「漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベース」構築プロジェクトの一環として、生薬エキスのロット差を生物活性を指標に検出することを目的とする。

がん細胞は、発生母地の正常細胞の性質をある程度は保持していると考えられ、細胞ごとに化学物質に対する感受性が異なっていることが知られている。したがって、生薬のような複合薬物の活性を評価するに当たり、特定の分子等に焦点を当てるのではなく、広範な制御機構の影響を受ける細胞増殖能を指標とする生物活性試験が有用であると考えられる。そこで、ヒト子宮頸がん細胞株 HeLa に対する各生薬エキスの活性を測定した。

炎症性サイトカイン TNF- α は、炎症性疾患をはじめとした様々な疾患の病態形成に極めて重要な役割を果たしている。最近、がん微小環境内における役割についても注目を集めている。そこで本研究においては、TNF- α シグナル伝達系に焦点を当て、転写因子 NF- κ B 活性化試験を実施した。ま

た、NF- κ B や AP-1 によって発現が制御されるサイトカイン IL-6 の三性試験を実施した。

B. 研究方法

1. 実験材料

本研究に使用された生薬試料は、データベース構築のために国内の生薬メーカーより (独) 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センターが提供を受けた試料である。被検生薬が各アッセイ系で活性を示すのかを検証する目的で、生薬ごとに各ロットを等量ずつ混ぜた標準ロットを作製し、試験に供した。今後、この標準ロットで活性が認められるものについては、各ロットの再アッセイを行い、ロット差を検討することにした。

本年度は、センキュウ、ソヨウ、ブクリョウの3種の生薬について検討を行った。(尚、各標準生薬の質量分析解析結果は、協力研究者の田中謙博士の報告書を参照のこと)

2. 実験方法

細胞培養

HeLa 細胞は DMEM+10% FCS 培地で培養した。また、ルシフェラーゼアッセイには、NF- κ B 結合配列を 4 つタンデムに持つレポータープラスミドを安定発現する HeLa- κ B6 細胞を用い、親株の HeLa 細胞と同様の方法で培養した。

がん細胞増殖試験

HeLa 細胞を 96 ウェルプレートに播種し (3×10^3 cells/well)、翌日に生薬エキスを添加した。その 24 時間後に WST-1 試薬を加え、吸光度(450nm)を測定した。陽性コントロールとして、doxorubicin を 10 μ g/mL で添加した。生薬は 10mg/ml の水溶液を作製し (不溶物を遠心分離で除いた)、最終濃度 100 μ g/mL で試験を実施した。

NF- κ B 活性化試験

HeLa- κ B6 細胞を 96 ウェルプレートに播種し (1.5×10^4 cells/well)、翌日に最終濃度 100 μ g/mL で生薬エキスを添加した。その 30 分後に TNF- α を最終濃度 10ng/mL となるように添加し、さらに 6 時間培養した。培養上清を取り除き、細胞溶解液を調製し、ピッカジーン (東洋インキ社製) を用いてルシフェラーゼ活性を測定した。

IL-6 産生試験

HeLa- κ B6 細胞を 96 ウェルプレートに播種し (1.5×10^4 cells/well)、翌日に最終濃度 100 μ g/mL で生薬エキスを添加した。その 30 分後に TNF- α を最終濃度 10ng/mL となるように添加し、さらに 6 時間培養した。培養上清を回収し、ELISA 法 (BD 社製) により IL-6 濃度を測定した。

C. 研究結果

がん細胞増殖試験

HeLa 細胞に各標準ロットの生薬エキスを 24 時間培養後の細胞数を WST-1 アッセイで検討した。3 種類の生薬エキスを検討した結果、100 μ g/mL ではあまり顕著に阻害するものは認められなかったことから、各ロットの試験は実施しないこととした。

NF- κ B 活性化試験

HeLa- κ B6 細胞を TNF- α で刺激することにより、発現するルシフェラーゼ活性が約 2.5 倍上昇した。この発現誘導に対する各標準ロットの効果を調べた。ソヨウは阻害効果を示さなかった。一方、センキュウとブクリョウが TNF- α 刺激によるシフェラーゼ発現を 50% 弱抑制したことから、今後これら生薬について各ロットの試験を実施することを検討することにした。

IL-6 産生試験

細胞を TNF- α で刺激することにより、IL-6 の発現が著しく上昇することを確認した。この上昇に対して各標準ロットの効果を調べた。その結果、強く阻害する生薬は認められなかったが、3 つの生薬エキスとも活性は認められなかったため、各ロットの試験は実施しないこととした。

D. 考察

3 つのアッセイで弱いながらも活性を示す生薬が見出されたことから、各生薬の標準ロットを作製し生物活性の有無を確認する方法は、効率的な手法として有効であると思われた。したがって、来年度以降も本法を採用し、できるだけ多くの生薬エキスの生物活性を効率的に検討していく予定である。

NF- κ B 活性化は IL-6 産生に関与しているにもかかわらず、NF- κ B 活性化阻害作用のあるにもかかわらず IL-6 産生阻害作用が認められない生薬があった。この結果については、各ロットの試験を実施することによるロット差の検討から考察を加えていく必要があると考えられた。

E. 結論

3 つの試験を実施し、それぞれ各標準ロットの効果を検討した結果、弱いながらも活性を示した生薬が存在したことから、今後各ロットの試験を実施することとした。

F.研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

なし

G.知的財産権の出願, 登録状況

なし

H.健康危険情報

なし

表1. 本研究に使用された生薬リスト

センキュウ

管理番号	産地	形態	入手年	備考(栽培・野生・等級)
NIB-026	日本 北海道	原形	2010	
NIB-048	日本 北海道	原形	2010	
NIB-064	日本 北海道	原形	2010	
NIB-084	日本 北海道	原形	2009	栽培品(主に使用)
NIB-100	日本 北海道	原形	2010	
NIB-132	日本 北海道	原形	2010	栽培品
NIB-159	日本 北海道	原形	2010	
NIB-199	日本 北海道	刻み	2008	
NIB-214	日本 北海道	原形		

ソヨウ

管理番号	産地	形態	入手年	備考(栽培・野生・等級)
NIB-027	山東産	原形	2010	
NIB-133	中国 河南省	原形	2010	栽培品
NIB-160	中国 河北省	原形	2010	和種
NIB-200	中国 浙江省	刻み	2010	
NIB-211	日本 岩手	原形		

ブクリョウ

管理番号	産地	形態	入手年	備考(栽培・野生・等級)
NIB-031	北鮮産	碎	2008	碎
NIB-051	中国四川省	刻み	2010	
NIB-052	中国雲南省	刻み	2010	
NIB-087	中国四川省	刻み	2008	栽培品(主に使用)
NIB-140	中国安徽省	刻み	2009	栽培品(主に使用)
NIB-143	中国四川省	刻み	2003	
NIB-165	中国四川省	刻み	2009	
NIB-207	中国安徽省	角切	2010	白茯苓
NIB-221	中国四川省	原形		

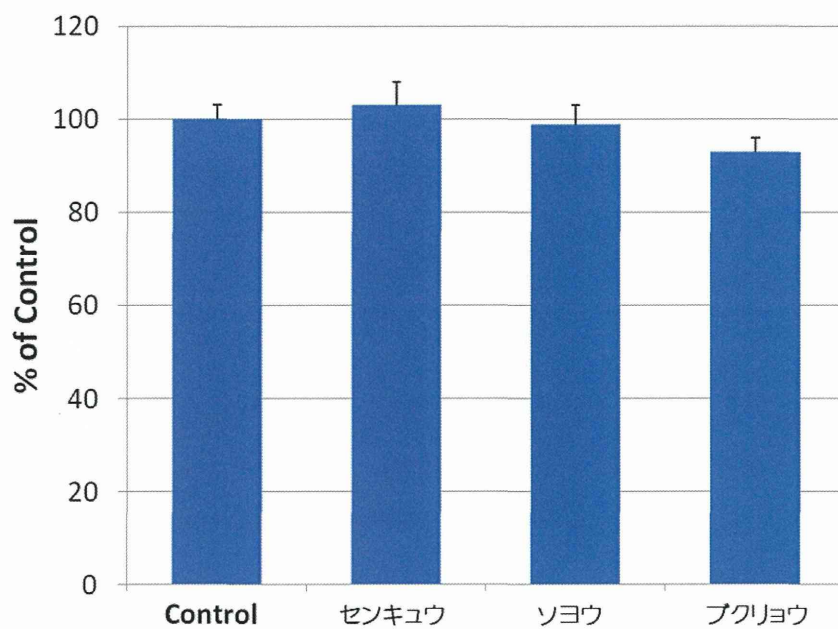


図 1. がん細胞増殖試験の結果

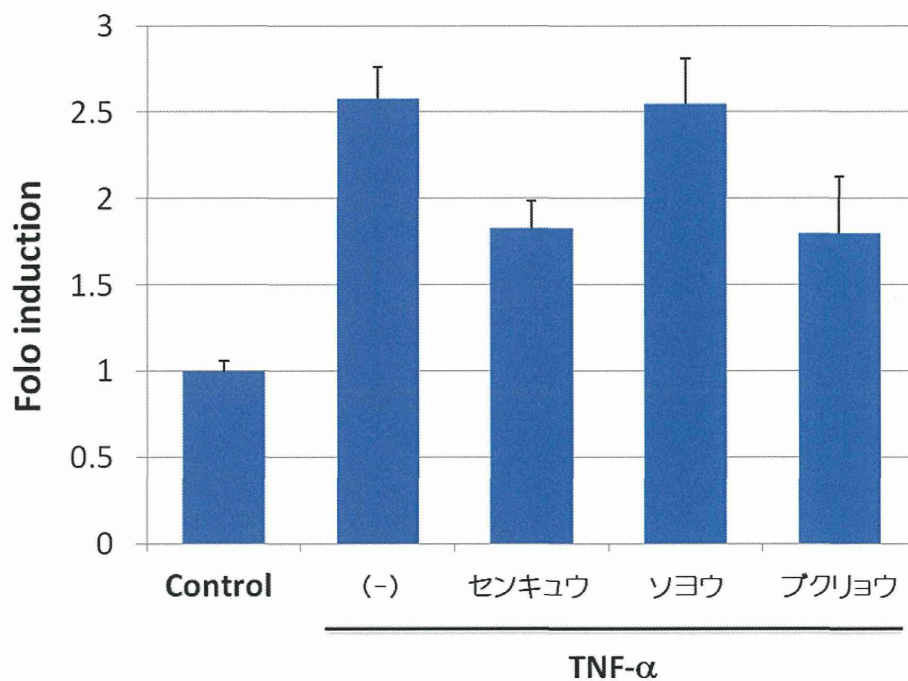


図 2. NF-κB 活性化試験の結果

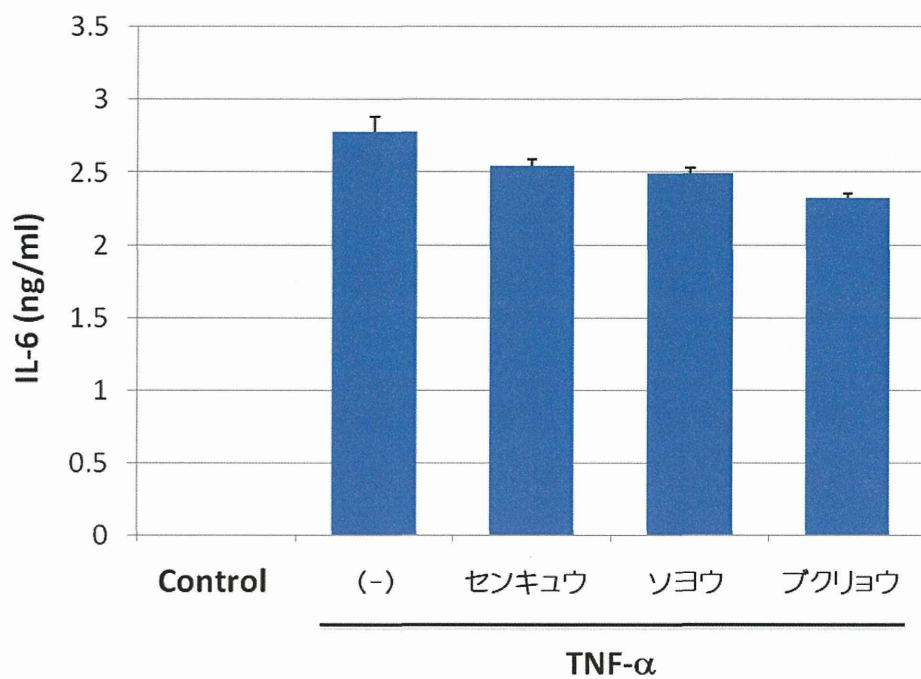


図3. IL-6産生試験の結果

平成24年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベース構築のための
基盤整備に関する研究（H22-創薬総合-一般-013）
分担研究報告書

研究分担課題 生物活性情報及び成分分析データ情報に関する研究

研究分担者 富山大学和漢医薬学総合研究所 所長 濟木 育夫

樹状細胞に対する生薬エキスの効果

研究協力者 富山大学和漢医薬学総合研究所消化管生理学分野 山本 武

生薬エキスのロット差を生物活性によって検出するために、生薬エキスによる免疫系制御に着目し免疫制御の中心的な役割を担う樹状細胞を用いて、樹状細胞の成熟化に対する生薬エキスの効果の検討を行った。樹状細胞は、成熟に伴い細胞表面分子（CD80, CD86, MHC class II）の発現が増加するため、これら細胞表面分子を発現した樹状細胞の割合を指標として生薬エキスの効果の検討を行った。マウスの骨髄細胞より樹状細胞を分化誘導し、生薬エキスの各ロットを等量混合した生薬エキス標準品を用い検討を行った。本年度は昨年につき、センキュウ、ソヨウ、ブクリョウの3種の生薬エキスについて検討を行ったが、いずれの生薬エキスについても成熟化に対して有効な効果が認められなかった。また、樹状細胞の細胞生存率についても検討を行ったが、3種の生薬のいずれも効果を示さなかった。

A. 研究目的

本研究は、「漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベース」構築プロジェクトの一環として、生物活性を指標にして生薬エキスのロット差を検出することを目的とする。

樹状細胞は、自然免疫と獲得免疫を繋ぐ重要な抗原提示細胞として知られている。樹状細胞は生体内に侵入した感染性病原体などの異種抗原を認識して成熟化し、様々な炎症性サイトカインを産生し、感染初期の防御反応を惹起する。また、樹状細胞は感染性病原体などの異種抗原を捕食し成熟化し、未成熟 T 細胞と反応し、キラー T 細胞及び抗体産生に関わるヘルパー T 細胞への分化を誘導する。一方、樹状細胞は免疫系の恒常性の維持に関与し、自己抗原への反応の抑制や制御性 T 細

胞の産生に関与する。この様に、樹状細胞は、成熟化を伴い免疫応答の活性化や抑制に関与している。

漢方薬は、生体の恒常性の維持に重きを置いた薬物治療体系を有し、生体の制御システムである免疫系は大きな治療標的の一つとして考えられている。実際に、年間生産量が上位の漢方薬の多くが免疫機構の恒常性の破綻が原因となる病態に適応されており、免疫系制御の中心的な役割を担う樹状細胞がその治療標的のひとつであることが示唆される。

従って、漢方薬を構成する生薬の生薬エキスが示す生物活性の解析には、生体の免疫制御を標的として樹状細胞の機能制御に関する検討が有効であると考えられる。そこで、未成熟樹状細胞をマウス骨髄細胞から分化誘導し、