

201215010B

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業（臨床研究推進研究事業）

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

平成22－24年度 総合研究報告書

主任研究者 濟木 育夫

平成25年（2013年）5月

## 目 次

### I. 総括研究報告

漢方薬によるワクチンアジュバント効果の検討と臨床用・・・・・・・・・・・・・・・・・・1

済木 育夫

### II. 分担研究報告

1. 高齢者におけるインフルエンザワクチンに対する漢方薬のアジュバント作用の長期効果の  
検討・・7

済木 育夫、後藤 博三、小泉 桂一

2. 漢方薬の自然免疫ならびに獲得免疫に及ぼす影響に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・16

後藤 博三、済木 育夫

3. 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・・・・・・・・・・32

小暮 敏明

4. 重症皮膚創傷患者を対象とした補中益気湯の有効性の検討  
～補中益気湯投与によるパイロット研究及び並行群間比較試験について～・・・・・・・・・・38

並木 隆雄

5. 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・・・・・・・・・・・・・・・・・・44

齋藤 滋

6. インフルエンザ高齢患者に対する漢方薬治療の有効性  
—統計解析手法の違いによる結果の一致性検討—・・・・・・・・・・・・・・・・・・48

折笠 秀樹

7. 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  
漢方薬アジュバントの有効性に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・53

川名 敬

8. 粘膜免疫システムを介した漢方アジュバントの作用メカニズムの解明・・・・・・・・・・61

清野 宏

9. 十全大補湯のがんワクチンに対するワクチンアジュバントとしての応用  
に関する基礎研究・・75

小泉 桂一、済木 育夫

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	85
IV. 研究成果の刊行物・別刷	99

## 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

主任研究者 濟木育夫 富山大学和漢医薬学総合研究所病態生化学分野 教授

### 研究要旨

新型インフルエンザの流行や懸念されている高病原性トリインフルエンザに関する諸問題等から、人類は感染症の脅威に直面しており、効果的かつ包括的なインフルエンザワクチン療法の開発が急務である。さらには近年のがん研究の進展を背景として、発症抑制や治療を目的とした、種々のがんワクチンの開発・応用が目覚ましく進歩している現在において、これらワクチンの効果を増強するアジュバントの開発が強く求められている。一方で、漢方薬は、生体内の免疫機構を調整することで、さらに病態を改善する性質をもつことから、広い領域での応用とその治療効果が期待されている。

そこで本事業の基礎研究から、各種ワクチンに対するアジュバント効果を有する漢方薬を探索し、その機序を解明した。その結果、漢方薬の十全大補湯はワクチン抗原特異的な樹状細胞の抗原提示能力を亢進することにより、ワクチンに対するアジュバント効果を有するが明らかとなった。また、補中益気湯は粘膜ワクチンに対するアジュバント活性を有していることも確認できた。

次に、これらの基礎研究から探索された十全大補湯に関して、臨床研究として、高齢者のインフルエンザワクチンに対するアジュバント効果を解析した。長期療養型病床群に入院中の高齢者に対して、インフルエンザワクチンと十全大補湯の併用効果を検討した結果、十全大補湯はインフルエンザワクチン接種による高齢者の H3N2 に対する抗体産生を増強し、維持することが明らかとなった。

従って、十全大補湯を含めた現在医療現場で用いられている漢方薬を、種々ワクチンに対する安全性の高い経口可能なワクチンアジュバントとして速やかに応用することで、福祉に貢献できると考えられる。

### 分担研究者

			診療学講座 准教授
清野 宏	東京大学医科学研究所炎症免疫学分野 教授	斎藤 滋	富山大学大学院医学薬学研究部産科婦人科学 教授
川名 敬	東京大学医学部附属病院産科婦人科学 助教	折笠秀樹	富山大学大学院バイオ統計学・臨床疫学 教授
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	小泉桂一	富山大学和漢医薬学総合研究所漢方診断学分野 准教授
小暮敏明	社会保険群馬中央総合病院和漢診療科 部長		
並木隆雄	千葉大学大学院医学研究院和漢		



## A. 研究目的

(平成 22 年度当初目的の変更はない。)

高齢化が進む中、高騰する医療費の削減や、感染症の罹患率低減、さらには近年のがん研究の進展を背景としてがんの発症抑制を目的とした、種々のワクチンが医療現場で利用されている。海外では、効率的にワクチンの効果を得るために、アジュバントを用いた製剤が広く用いられているが、安全性を懸念する声もあり、国内では、アジュバントの使用はごく一部の製剤に限られている。このような中、新型インフルエンザ等の新興感染症に対するワクチンや、がん治療ワクチンの効果増強等のため、安全かつ効果的なワクチンアジュバントが強く求められている。一方、漢方薬の免疫に対する影響について、これまで我々は、自然免疫の活性化を介して薬効が発揮されることを数多く報告してきた (eCAM, 2008. 他 37 編)。漢方薬の獲得免疫に対する影響は未だ明らかでないが、最近我々は、漢方薬である十全大補湯が、がんワクチンを用いた抗原特異的な獲得免疫の誘導を促進し、抗がん効果の増強につながることを動物実験において明らかにした。この結果から、現在医療現場で用いられている漢方薬は、安全性の高い経口ワクチンアジュバントとして、速やかに応用できるものと期待している。そこで本研究では、現在医療現場で接種可能なワクチンを用いて、併用した際にそのワクチンの効果を増強する漢方薬を網羅的に探索する基礎研究を行うと共に、その有用性を臨床研究により評価する。これにより、既存のワクチンによる予防医療をより効果的・効率的に行うための漢方薬併用療法を、薬都・富山より提言するとともに、新規ワクチン開発時の未承認アジュバントの安全性リスクの回避による開発促進、抗原使用量減少による製造量の増加に資することを目的とする。具体的には、基礎研究と臨床研究を連関させながら遂行す

ることで、漢方薬の中から、ワクチン抗原に対する (1) 特異的抗体の産生、(2) 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の誘導、さらには (3) 交差反応性抗体の産生の増強が可能な漢方薬を網羅的に探索し、治療適応根拠に基づき、免疫力が低下した高齢者、およびリウマチ患者のインフルエンザならびに子宮頸がんワクチンアジュバントとして迅速に利用可能とする点にある。

なお、本総括研究報告書は研究組織全体の総括的な研究概要の報告とするため、分担研究の詳細は各分担研究報告書に記載する。

## B. 研究方法

1. 臨床研究①(高齢者およびリウマチ患者のインフルエンザワクチンに対する漢方薬のアジュバント応用に向けた検討)

済木、後藤、小暮、並木、小泉、折笠の分担報告の研究手法の項を参照のこと。

2. 臨床研究②(子宮頸がんワクチンに対する漢方薬のアジュバント応用に向けた予備的検討)

川名、齋藤、折笠の分担報告の研究手法の項を参照のこと。

3. 基礎研究(ワクチンアジュバント効果を有する漢方薬のその機序解析)

済木、清野、川名、小泉の分担報告の研究手法の項を参照のこと。

(倫理面への配慮)

本研究で用いる十全大補湯、補中益気湯および黄耆建中湯等の漢方薬はすでに医薬品として使用され、重篤な副作用の報告はない。仮に投与中に副作用が生じた際には、直ちに投与を中止し適切な処理を行う。この点に関して対象患者にはインフォームドコンセントを行い承諾を得た。なお、この臨床研究は富山大学倫理委員会から承認済

みである。実験動物を用いた基礎研究に関しては、national animal welfare committee のガイドラインに従って行った。

### C. 研究結果

#### 1. 臨床研究①(高齢者およびリウマチ患者のインフルエンザワクチンに対する漢方薬のアジュバント応用に向けた検討)

済木、後藤、小暮、並木、小泉、折笠

(1) 高齢者におけるインフルエンザワクチンに対する漢方薬のアジュバント作用の長期効果の検討では、今年度は、昨年度の短期効果の結果をもとに被検薬として十全大補湯を用い、6ヶ月の長期間にわたりインフルエンザワクチンの抗体産生に及ぼす影響を検討した。対象は千葉県、群馬県、富山県の長期療養型病床4施設に入院中の患者でインフルエンザワクチン接種予定者91名。参加者を無作為に十全大補湯投与群と漢方薬非投与群の2群に分け、28週間経過観察した。インフルエンザワクチン接種4週前、接種時、接種後4週、8週、12週、24週にHI価(A/カリフォルニア/7/2009(H1N1)、A/ビクトリア/210/2009(H3N2)、B/ブリスベン/60/2008(ビクトリア系統)の抗体価)を測定した。その結果、A/Victoria/210/2009(H3N2)に対して、接種4週後、接種12週後、接種24週後において十全大補湯投与群は漢方薬非投与群に比べて、HI価が高値を示した症例数の増加傾向を認めた( $p < 0.1$ )。さらに接種8週後では十全大補湯投与群は漢方薬非投与群に比べて、HI価が高値を示した症例数の有意な増加を認めた( $p < 0.05$ )。同様にA/Victoria/210/2009(H3N2)に対するHI価の推移は、4週から24週において十全大補湯投与群が漢方薬非投与群に比べて有意に上昇した( $p < 0.05$ )。このことから、十全大補湯

はインフルエンザワクチン接種による高齢者のA/Victoria/210/2009(H3N2)に対する抗体産生を増強し、維持することが明らかとなった。

(2) リウマチ(RA)患者に対しての検討も行った。現在、RA患者ではインフルエンザワクチン接種が推奨されているが、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の意義が、なお議論されている。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て、45例(平成22年度)・56例(平成23年度)・7例(平成24年度)の漢方薬を投与されているRAを対象として3種類のSubunitについて観察研究を実施した。その結果、漢方薬が投与されているRA患者は、1)血清変換(Seroconversion)において健常人とほぼ同様であった、2)MTX投与群/非投与群で血清変換に差異は見られなかった、3)臨床的に有意な抗体価以上を呈する患者(Seroprotection)が多かった、4)インフルエンザワクチン接種前後でRAの疾患活動性の増悪は見られなかった、5)Bio製剤で加療されているRA患者ではA Strainでは臨床的に有意な免疫応答が見られたが、B Strainでは免疫応答が不十分であった、等の結果が得られた。以上からRA患者において漢方薬はRAの疾患活動性の抑制が期待されている一方で、インフルエンザワクチン免疫応答にPositiveに作用することが示唆された。今後は長期的な抗体価の推移ならびにBio.製剤が投与されているRA患者に特化して症例数を増やし免疫応答を明らかにする必要性がある。

2. 臨床研究②（子宮頸がんワクチンに対する漢方薬のアジュバント応用に向けた予備的検討）川名、齋藤、折笠

(1) E7 発現乳酸菌経口薬 (GLBL101c) のヒトでの有効性の検討乳酸菌をベースに HPV16E7 癌蛋白質を発現させた抗 HPV 治療ワクチン (GLBL101c 内服) は、癌ワクチン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 (E7-CMI) が高い症例では、CIN3 に対する治療効果が示された。この薬理効果と臨床効果の間に相関性あることが本年度初めて示され、CIN3 の病変退縮が GLBL101c によるものである可能性が高い。特に、4cap/日 (1g/日) の 10 例では、投与開始から 6 か月後に CR4 例、PR4 例となり、奏効率 (CR+PR) が 80% となった。海外で行われた非介入観察研究の報告では、CIN3→CIN2 への 6 か月観察後の自然退縮率は 15% と言われている。本臨床試験では、プラセボ群を設定していないが、GLBL101c による退縮率 80% は明らかに薬剤依存的であると考えられた。

(2) HPV ワクチン接種を行う女性を対象に、漢方薬が副作用軽減作用および抗体産生のアジュバント効果を持つかを検討中である。対象は 20 代の一般女性であり、無作為に十全大補湯エキス投与群と非投与群を割り付けし、ワクチン接種を行っている。調査項目は、症状日記を用いて副反応の軽減の有無：局所（注射部位）の特定した症状（疼痛、発赤、腫脹）および全身性の特定した症状（疲労、筋肉痛、頭痛、胃腸症状、関節痛、発疹、発熱、蕁麻疹）を調査し、血液検体を用いて生化学検査 (BUN、Cre、GOT、GPT、 $\gamma$ -GTP) および免疫学的検査 (HPV 抗体価) の測定を行う。これまで 38 名が 2 群に分かれ投与を開始し、副作用の差につき解析を行った。

両群ともに副作用発現に有意な差を認めなかった。また、重篤な副作用も一例も認めなかった。今後は、漢方薬による抗体産生へのアジュバント効果の評価を行う予定である。

3. 基礎研究(ワクチンアジュバント効果を有する漢方薬のその機序解析)

済木、清野、川名、小泉

(1) がん抗原を用いて宿主にがん特異的な免疫反応を誘導し抗腫瘍効果を得る治療法、がんワクチン療法が、近年注目され研究されている。本治療法は、がん特異的であることから、強力かつ安全という利点がある。一方、がん抗原の免疫原性の弱さがその治療効果を妨げている要因となっている。本研究において、漢方薬の十全大補湯が獲得免疫系を惹起することで、がん抗原特異的 T 細胞を誘導する可能性、そして、がんワクチン免疫療法における新たな経口投与可能なアジュバントとしての、漢方薬 (漢方アジュバント) の有用性を検討した。その結果、十全大補湯は、がんワクチン療法の効果を増強するアジュバントとしての作用を有し、その抗腫瘍効果の機序としては、ワクチン抗原特異的な樹状細胞の抗原提示能力を亢進によるものであることが明らかとなった。さらに 2012 年度は、漢方薬の構成生薬から増強効果を有する活性成分を同定し、生薬成分由来の新たなアクチンアジュバントを開発する目的で、富山大学和漢医薬学総合研究が構築した和漢薬標準ライブラリー (合計 112 種類の生薬を用いて、樹状細胞の 2 種類の主要組織適合遺伝子複合体 (MHC class I および II) に対する抗原提示能力を亢進させる生薬を探索した。その結果、十全大補湯構成 10 生薬のなかで、シャクヤク、トウキ、ビャクジュ

ツ、ブクリョウの4種類（1.7倍のカンゾウを含めると5種類）が抗原提示能力を亢進させることで、十全大補湯はワクチンアジュバント効果を有することが明らかとなった。今後は、これら生薬から増強効果を有する活性成分を同定し、生薬成分由来の新たなアクチンアジュバントを開発する予定である。

- (2) 本研究において、免疫調節機能があることが報告されている十全大補湯や補中益気湯、黄耆建中湯の解析を行い、①補中益気湯に経口ワクチンにより誘導される抗原特異的 IgA 抗体の産生増強効果があること、②経口ワクチン接種と同時に補中益気湯を投与した群では、1ヶ月余り抗原特異的 IgA 抗体の産生が増強すること、③経口ワクチン接種後の投与では増強効果がないものの、抗原を再投与しメモリー応答を惹起する際に補中益気湯を投与した群では IgA の産生増強効果が認められること、④経口ワクチンにより誘導される全身免疫系での抗原特異的 IgG 抗体の産生については、補中益気湯よりも十全大補湯のほうに強い増強効果があること、が判明した。これらの結果は、補中益気湯の漢方アジュバントとしての有効性を示すと共に、免疫系を活性化することが知られていた漢方薬であっても、その活性の対象となる組織が異なっており、漢方アジュバントとして用いる際にはそれらを考慮した利用が必要であることを示唆する重要な結果であると考えられる。
- (3) 本研究において、漢方アジュバント（補中益気湯）を GLBL101c に併用して経口投与することによって GLBL101c による細胞性免疫誘導能を増強させることを証明した。全身性免疫の増強効果は漢方アジュバントのみで確認されたが、粘膜免疫の増強効果は漢方アジュバン

トのみでは乏しく、漢方薬に粘膜アジュバントを併用することで良好な免疫誘導能の増強が示された。これまで報告されてきた漢方薬のアジュバント効果は、主として液性免疫（抗体産生）の増強効果であったが、本研究では、細胞性免疫（E7 特異的 IFN $\gamma$ 産生細胞）の増強効果が示された。本研究の成果に加え、GLBL101c による子宮頸癌前癌病変に対する臨床的有効性が証明されていることから、アジュバントによる薬理効果を増強することで初期子宮頸癌に対する治療等の臨床応用が十分に期待される。漢方薬と粘膜アジュバントの経口投与を GLBL101c 経口投与に加えることによって、より効果的な子宮頸癌に対する癌ワクチン療法を構築することができると考えられた。

#### D. 考察

#### E. 結論

平成 24 年度の本事業において、当初計画通り、高齢者に対するインフルエンザワクチンに対する漢方薬のアジュバント効果に関する無作為化比較臨床研究も終了した。その結果、長期療養型病床群に入院中の高齢者に対して、インフルエンザワクチンに対する十全大補湯のアジュバント効果を検討した。その結果、十全大補湯はインフルエンザワクチン接種による高齢者の H3N2 に対する抗体産生を増強し、維持することが明らかとなった。今後、インフルエンザワクチンの抗体産生に関して、基礎研究では十全大補湯の有効成分と作用機序の解明や、臨床研究では適切な投与期間や適応病態の検討を実施していく必要があると考えられる。さらに、Bio 治療下で漢方薬を投与された RA 患者におけるインフルエンザワクチン接種後の免疫応答の経過観察を本院和漢診療科で加療中の RA 患者を対象に実施した。その結果、A strain においては



臨床的に有意な Seroconversion を認め、インフルエンザワクチン免疫応答に Positive に作用する可能性が示唆された。しかしながら B strain では有意な免疫応答が観察されず、この臨床的な問題に関してはさらに多数例での臨床研究を継続する必要があると考えられる。

子宮頸がんワクチンに関しては、HPV ワクチン接種を行う健常人女性への漢方内服は、ワクチン接種による副作用悪化効果はなく、今後はワクチン効果の増強・効果の持続を検討していく予定である。また、HPV E7 発現型乳酸菌 GLBL101c の経口投与は、粘膜免疫を介した世界初の癌ワクチンである。ヒトの子宮頸部における E7 特異的細胞性免疫誘導を伴い、病理学的有効性が得られていることから、薬理効果に伴った臨床効果と考えられた。GLBL101c の 4 cap/日投与における奏効率 80% は、明らかな臨床効果を考えられた。漢方や粘膜アジュバントの併用によって GLBL101c の投与量を減らすことができる可能性があり低コスト化や臨床的効果の増強が期待される。

さらに、基礎研究結果から、十全大補湯および補中益気湯のワクチンアジュバント効果の免疫学的機序も明らかにすることができた。将来的に種々ワクチンと漢方薬の併用療法構築の際における有用な情報を提供できると思われる。

#### F. 健康危険情報

特記事項無し

#### G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

各分担研究者の項を参照のこと

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願
2. 実用新案登録

各分担研究者の項を参照のこと

#### 3. その他

なし

## 高齢者におけるインフルエンザワクチンに対する漢方薬の アジュバント作用の長期効果の検討

研究代表者 済木 育夫 富山大学和漢医薬学総合研究所

病態生化学分野 教授

研究分担者 後藤 博三 医療法人 北聖病院 漢方内科部長

研究分担者 小泉桂一 富山大学和漢医薬学総合研究所

漢方診断学分野 准教授

### 研究要旨

本事業において、我々は高齢者などのインフルエンザのハイリスクグループに対する漢方薬のインフルエンザワクチンアジュバントとしての可能性を多面的に解析し、多施設において漢方薬非投与症例と比較検討してきた。今年度は、昨年度の短期効果の結果をもとに被検薬として十全大補湯を用い、6ヶ月の長期間にわたりインフルエンザワクチンの抗体産生に及ぼす影響を検討した。対象は千葉県、群馬県、富山県の長期療養型病床4施設に入院中の患者でインフルエンザワクチン接種予定者91名。参加者を無作為に十全大補湯投与群と漢方薬非投与群の2群に分け、28週間経過観察した。インフルエンザワクチン接種4週前、接種時、接種後4週、8週、12週、24週にHI価（A/カリフォルニア/7/2009（H1N1）、A/ビクトリア/210/2009（H3N2）、B/ブリスベン/60/2008（ビクトリア系統）の抗体価）を測定した。その結果、A/Victoria/210/2009（H3N2）に対して、接種4週後、接種12週後、接種24週後において十全大補湯投与群は漢方薬非投与群に比べて、HI価が高値を示した症例数の増加傾向を認めた（ $p < 0.1$ ）。さらに接種8週後では十全大補湯投与群は漢方薬非投与群に比べて、HI価が高値を示した症例数の有意な増加を認めた（ $p < 0.05$ ）。同様にA/Victoria/210/2009（H3N2）に対するHI価の推移は、4週から24週において十全大補湯投与群が漢方薬非投与群に比べて有意に上昇した（ $p < 0.05$ ）。このことから、十全大補湯はインフルエンザワクチン接種による高齢者のA/Victoria/210/2009（H3N2）に対する抗体産生を増強し、維持することが明らかとなった。

### A. 研究目的

インフルエンザワクチンは、インフルエンザ予防の重要な手段である。現在、これらワクチン療法の効果を増強するために、接種したワクチン抗原に対する特異的な免

疫系を誘導する、いわゆるワクチンアジュバントの開発が国家プロジェクトとして遂行されている。これらワクチンアジュバントに付与すべき機能としては、(1)抗体産生の一過的な増加効果のみが着目されがちだ

が、将来的には(2)抗体産生の持続効果および(3)副反応の軽減を付与した次世代型のワクチンアジュバントの開発が望まれている。さらに、新型インフルエンザ対策として行われるプレパンデミックワクチンの有用性を高めるためには、接種したワクチン抗原と近似構造の抗原をも認識する(4)交差性抗体群の誘導可能なワクチンアジュバントの開発が必須である。

近年、幾つかの漢方薬にワクチンアジュバントとしての効果が示唆される報告が散見されている。しかしながら、これらの報告は上記(1)に関する検討にとどまっていることが多く、包括的にワクチンアジュバントの付与すべき機能を検討してはいない。

そこで、本検討では、高齢者などのインフルエンザのハイリスクグループに対する漢方薬のインフルエンザワクチンアジュバントとしての可能性を(1)から(4)の項目を中心として多面的に解析し、多施設において漢方薬非投与症例と比較検討する。昨年度の短期効果の結果をもとに、被検薬として十全大補湯を用い、6ヶ月の長期間にわたり、インフルエンザワクチンの抗体産生に及ぼす影響を検討する。

## B. 研究方法

1) 対象は千葉県、群馬県、富山県の長期療養型病床 4 施設に入院中の患者でインフルエンザワクチン接種予定者 91 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) 参加者を割り付けソフトにより無作為に十全大補湯投与群(一日量 7.5g/日をワクチン接種 4 週間前から内服開始)と漢方薬非投与群の 2 群に分け、28 週間経過観察した。インフルエンザワクチン接種 4 週前、接種時、接種後 4 週、8 週、12 週、24 週に各調査項目を測定し、十全大補湯投与群と漢方

薬非投与群を比較検討した。

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。抗体産生の増加効果の検討のため HI 価 (A/カリフォルニア/7/2009 (H1N1)、A/ビクトリア/210/2009 (H3N2)、B/ブリスベン/60/2008 (ビクトリア系統)の抗体価)を測定した。また、副反応に及ぼす影響を検討するため血中 IgE-RIST、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,  $\gamma$  GTP, BUN, Cr, UA, Na, K, Cl, CRP) を実施した。

4) 調査項目は、mean $\pm$ S.D. で表し、インフルエンザワクチン接種後の各時点での群間比較は Cochran-Armitage trend test を実施し、 $P < 0.05$  を統計学的に有意と判定した。調査期間の 4 週から 24 週における各群間の抗体価の推移の比較には、抗体価を順序データとして (10 倍未満を 0、10 倍を 1、20 倍を 2、40 倍を 3、80 倍を 4、160 倍を 5、320 倍を 6、640 倍を 7、1280 倍を 8 とランク付けした) 変換した後、Nonparametric repeated 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) 十全大補湯投与群と漢方薬非投与群の背景因子、脱落例、安全性の検討  
参加者の 1 名が割り付け前に同意を撤回し 90 名が本研究に参加した。参加者は十全大補湯投与群 44 名 (男性 10 名、女性 34 名、平均年齢 85.6 $\pm$ 8.2 才) と漢方薬非投与群 46 名 (男性 11 名、女性 35 名、平均年齢 85.5 $\pm$ 8.3 才) に割り付けられた。両群の背景因

子を表 1 に示した。研究継続できなかつた参加者は、十全大補湯投与群で原疾患の増悪による死亡 1 名、重症化 3 名、同意撤回 1 名、内服拒否 2 名、割付後研究開始までに経口摂取不能となった者 2 名、腸閉塞発症 1 名、脳梗塞発症 1 名、胃もたれ 1 名の 12 名であった。漢方薬非投与群では原疾患の増悪による死亡 1 名、同意撤回 1 名であった。安全性の検討で、血液生化学検査では、感染等によると考えられる白血球増加、CRP 上昇以外に、明らかな異常所見を認めなかつた。また、血中 Ig-E-RIST 値も有意な変化を認めなかつた。自覚症状として十全大補湯の内服による胃もたれの訴えが 1 名認められ、内服中止となった。

2) 十全大補湯投与群と漢方薬非投与群のインフルエンザワクチン接種 4 週前、接種時、接種後 4 週、8 週、12 週、24 週における各 HI 価の症例数の比較

A/ California/7/2009 (H1N1) に対しては、十全大補湯投与群と漢方薬非投与群でインフルエンザワクチン接種後 4 週から接種後 24 週における各 HI 価の症例数に有意な差は認められなかつた (表 2)。A/ Victoria /210/2009 (H3N2) に対して、接種 4 週後、接種 12 週後、接種 24 週後において十全大補湯投与群は漢方薬非投与群に比べて、HI 価が高値を示した症例数の増加傾向を認めた ( $p = 0.0739$ 、 $p = 0.0849$ 、 $p = 0.0895$ )。さらに接種 8 週後では十全大補湯投与群は漢方薬非投与群に比べて、HI 価が高値を示した症例数の有意な増加を認めた ( $p = 0.0229$ ) (表 3)。B/ Brisbane /60/2008 に対しては、十全大補湯投与群と漢方薬非投与群でインフルエンザワクチン接種後 4 週から接種後 24 週における各 HI 価の症例数に有意な差は認められなかつた (表 4)。

3) 十全大補湯投与群と漢方薬非投与群のインフルエンザワクチン接種後から 24 週にお

ける各 HI 価の推移の比較

A/ California/7/2009 (H1N1) に対する HI 価の推移は、十全大補湯投与群と漢方薬非投与群で有意な差は認められなかつた (図 1-(1))。A/ Victoria /210/2009 (H3N2) に対する HI 価の推移は、十全大補湯投与群が漢方薬非投与群に比べて有意に上昇した ( $p = 0.0468$ ) (図 1-(2))。B/ Brisbane /60/2008 に対する HI 価の推移は、十全大補湯投与群と漢方薬非投与群で有意な差は認められなかつた (図 1-(3))。

#### D. 考察

今回我々は、高齢者などのインフルエンザのハイリスクグループに対する漢方薬のインフルエンザワクチンアジュバントとしての可能性を (1) 抗体産生の一過的な増加効果 (2) 抗体産生の持続効果 (3) 副反応の軽減 (4) 交差性抗体群の産生増強効果の項目を中心として多面的に解析し、多施設において漢方薬非投与症例と比較検討した。

昨年度までの本事業において、漢方薬十全大補湯と補中益気湯のインフルエンザワクチン接種後の抗体産生に及ぼす影響を検討した。その結果、接種前抗体価 10 以下で接種後抗体価 40 以上または接種前抗体価に比べて抗体価の上昇率が 4 倍以上を陽転と定義し、十全大補湯投与群、補中益気湯投与群、漢方薬非投与群の陽転率の推移を検討したところ、A/ Victoria /210/2009 (H3N2) に対する陽転率が十全大補湯投与群 46% と漢方薬非投与群 15% に比較して上昇傾向が認められた。このことから、抗体価の低い高齢者のインフルエンザワクチン接種後の抗体価上昇に十全大補湯は、好影響を及ぼしていると考えられた。そこで、本年度はさらに症例数を追加し、十全大補湯を用いたインフルエンザワクチンに対するアジュバント作用の長期効果を検討した。

今回の検討で、十全大補湯の内服により対照群に比較して、インフルエンザワクチ

ン接種後の A/ Victoria /210/2009 (H3N2) に対する HI 価の高値症例が 4 週後から上昇傾向となり、8 週後には有意に上昇した。さらに、24 週後まで上昇傾向は継続した。このことから、十全大補湯にはインフルエンザワクチン接種後の A/ Victoria /210/2009 (H3N2) に対する抗体産生の増強と維持効果があることが明らかになった。これまでの報告では、抗体価が 10 倍未満の高齢者 18 名を 2 群に分け麻黄附子細辛湯をインフルエンザワクチン接種前 7 日から接種後 14 日内服させたところ、ワクチン接種 4 週後の A (H3N2) に対する抗体価が麻黄附子細辛湯内服群で有意に上昇したとの報告がある (岩崎鋼 他、麻黄附子細辛湯が高齢者におけるインフルエンザワクチン接種に及ぼす影響、漢方と免疫・アレルギー 17、97-103、2004)。一方、20-60 才の 36 名の健常男性を 2 群に分け補中益気湯をインフルエンザワクチン接種前 14 日から接種前日まで内服させ、接種 0 週から 12 週の抗体価を測定したところ、補中益気湯投与群と非投与群で差は認められなかったとの報告がある (Hamazaki K. et al., No effect of a traditional Chinese medicine, Hochu-ekki-to, on antibody titer after influenza vaccination in man: A randomized, placebo-controlled, double-blind trial, Phytomedicine 14, 11-14, 2007)。このような漢方薬のインフルエンザワクチンアジュバント効果に関する検討は、使用する漢方薬の種類、投与期間、対象者など種々の影響を受けると考えられる。今回十全大補湯をワクチン接種前 4 週から内服し、ワクチン接種 4 週後で、対照群に比べて抗体価は上昇傾向を示した。今後、どの程度の内服期間がアジュバント効果増強に影響を及ぼすか検討を要する。一方、今回アジュバント効果の認められた十全大補湯は漢方薬の中でも補剤に位置づけられた処方である。保険診療においても、

病後の体力低下、疲労倦怠、食欲不振、貧血などの適応病名を有しており、アジュバント効果のみでなく、高齢者の種々の症状改善に有用でかつ長期投与に適した漢方薬である。安全性に関しては、十全大補湯投与群で脱落者が多く認められたが、これまでの報告を考慮すると十全大補湯の直接的な副作用によるものは胃もたれの一例であると考えられた。

今後、インフルエンザワクチンの抗体産生に関して、基礎研究では十全大補湯の有効成分と作用機序の解明や、臨床研究では適切な投与期間や適応病態の検討を実施していく必要があると考えられる。

#### E. 結論

長期療養型病床群に入院中の高齢者に対して、インフルエンザワクチンに対する十全大補湯のアジュバント効果を検討した。その結果、十全大補湯はインフルエンザワクチン接種による高齢者の A/ Victoria /210/2009 (H3N2) に対する抗体産生を増強し、維持することが明らかとなった。

#### 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

- 1) Waiwut P, Shin MS, Yokoyama S, Saiki I, Sakurai H. Gomisin A enhances tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced G1 cell cycle arrest via signal transducer and activator of transcription 1-mediated phosphorylation of retinoblastoma protein. Biol Pharm Bull. 2012;35(11):1997-2003.
- 2) 小泉桂一、犬寫明子、大江未来広、柴原直利、済木育夫 トピックス：漢方薬のワクチンアジュバント効果、最新医学、2013、869-873



2. 学会発表

なし

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

表1 十全大補湯投与群（J群）、十全大補湯非投与群（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	1	2	3	4	5
J	10	34	85.6±8.2	26	19	6	3	3	6	9	23
N	11	35	85.5±8.3	28	18	8	5	4	4	8	25

(mean±S.D.)

表2 A/ California/7/2009(H1N1)における十全大補湯投与群（J群）と漢方薬非投与群（N群）のインフルエンザワクチン接種4週前、接種時、接種後4週、8週、12週、24週の各HI価の症例数の比較

		各HI価（倍）の症例数							p value
		<10	10	20	40	80	160	320	
〈4週前〉									
J群	(n=42)	13	12	10	2	4	1	0	
N群	(n=45)	14	11	5	11	4	0	0	
〈接種時〉									
J群	(n=37)	12	10	9	2	3	1	0	
N群	(n=45)	13	12	5	11	4	0	0	
〈4週後〉									
J群	(n=36)	3	10	7	7	7	0	2	0.8235
N群	(n=44)	2	10	12	10	7	3	0	
〈8週後〉									
J群	(n=34)	2	9	8	7	4	2	2	0.3529
N群	(n=44)	6	11	7	10	10	0	0	
〈12週後〉									
J群	(n=33)	8	10	6	4	3	2	0	0.4028
N群	(n=45)	11	16	6	11	1	0	0	
〈24週後〉									
J群	(n=31)	3	8	10	4	4	2	0	0.2848
N群	(n=44)	9	12	5	15	3	0	0	

表3 A/ Victoria /210/2009 (H3N2)における十全大補湯投与群 (J群) と漢方薬非投与群 (N群) のインフルエンザワクチン接種4週前、接種時、接種後4週、8週、12週、24週の各HI価の症例数の比較

	各HI価 (倍) の症例数									p value
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	
<4週前>										
J群 (n=42)	8	11	10	6	4	3	0	0	0	
N群 (n=45)	4	15	15	6	4	1	0	0	0	
<接種時>										
J群 (n=37)	6	11	9	4	4	3	0	0	0	
N群 (n=45)	4	14	16	6	4	1	0	0	0	
<4週後>										
J群 (n=36)	1	8	5	5	8	6	2	0	1	0.0739
N群 (n=44)	1	10	9	18	3	1	1	1	0	
<8週後>										
J群 (n=34)	0	5	6	7	6	5	4	0	1	0.0229
N群 (n=44)	0	7	14	15	5	1	1	0	1	
<12週後>										
J群 (n=33)	1	8	5	7	7	3	1	0	1	0.0849
N群 (n=45)	2	15	8	14	4	0	1	0	1	
<24週後>										
J群 (n=31)	0	8	5	8	6	2	1	0	1	0.0895
N群 (n=44)	1	13	12	12	4	1	0	0	1	

表4 B/ Brisbane /60/2008 における十全大補湯投与群 (J 群) と漢方薬非投与群 (N 群) のインフルエンザワクチン接種 4 週前、接種時、接種後 4 週、8 週、12 週、24 週の各 HI 価の症例数の比較

	各 HI 価 (倍) の症例数						<i>p</i> value
	<10	10	20	40	80	160	
<b>&lt;4 週前&gt;</b>							
J 群 (n=42)	12	17	5	6	2	0	
N 群 (n=45)	10	23	4	7	0	1	
<b>&lt;接種時&gt;</b>							
J 群 (n=37)	11	15	5	4	2	0	
N 群 (n=45)	10	20	8	6	0	1	
<b>&lt;4 週後&gt;</b>							
J 群 (n=36)	4	19	10	3	0	0	0.2576
N 群 (n=44)	9	21	13	1	0	0	
<b>&lt;8 週後&gt;</b>							
J 群 (n=34)	7	15	8	3	1	0	0.4411
N 群 (n=44)	13	19	8	3	0	1	
<b>&lt;12 週後&gt;</b>							
J 群 (n=33)	3	17	8	4	1	0	0.2610
N 群 (n=45)	3	32	6	3	1	0	
<b>&lt;24 週後&gt;</b>							
J 群 (n=31)	1	16	13	1	0	0	0.6710
N 群 (n=44)	1	28	13	1	1	0	

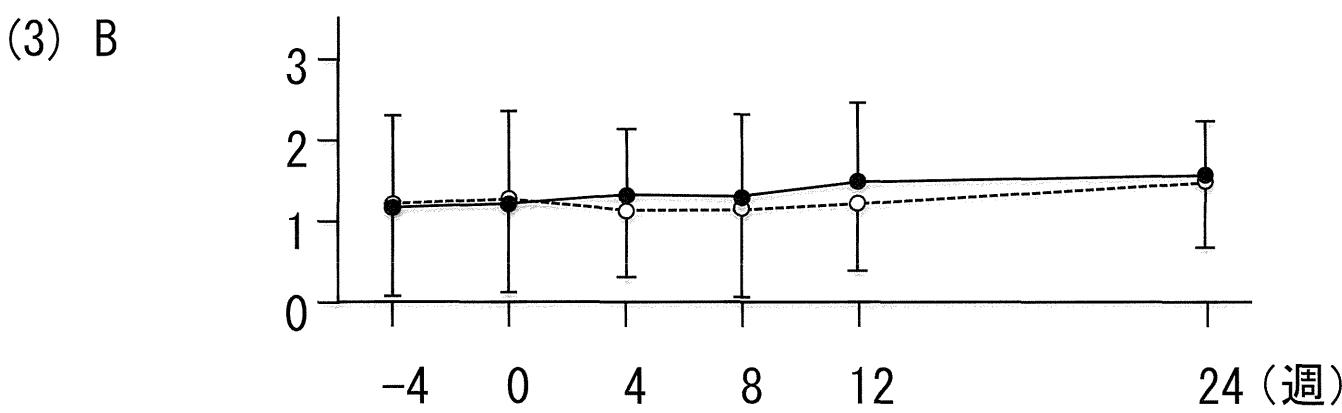
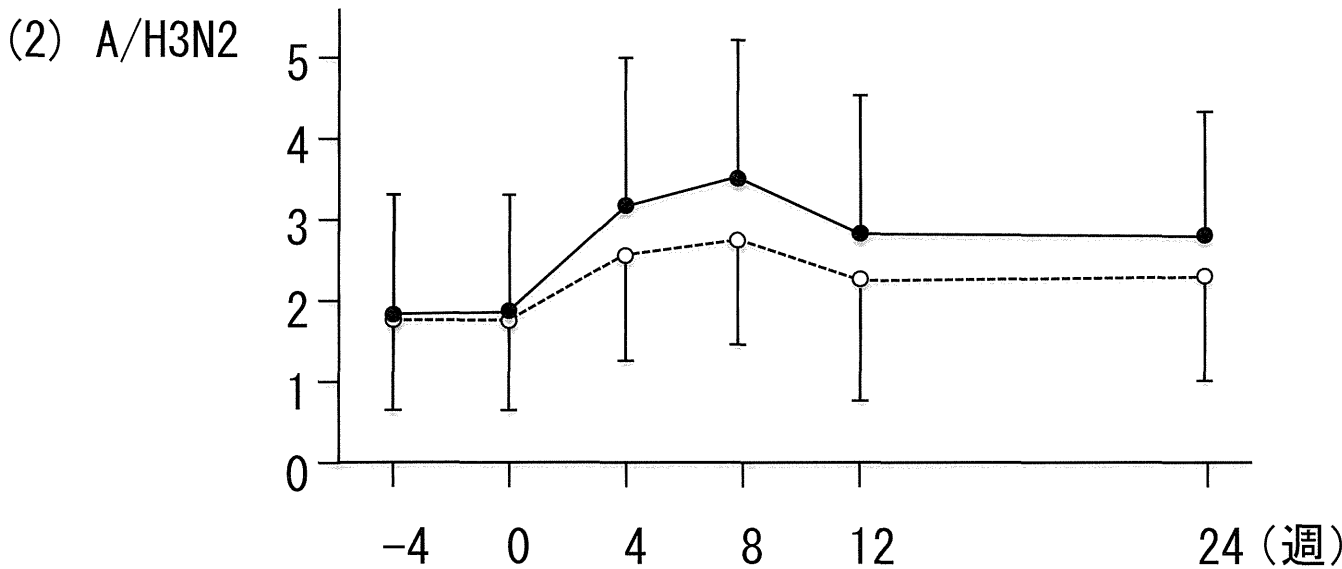
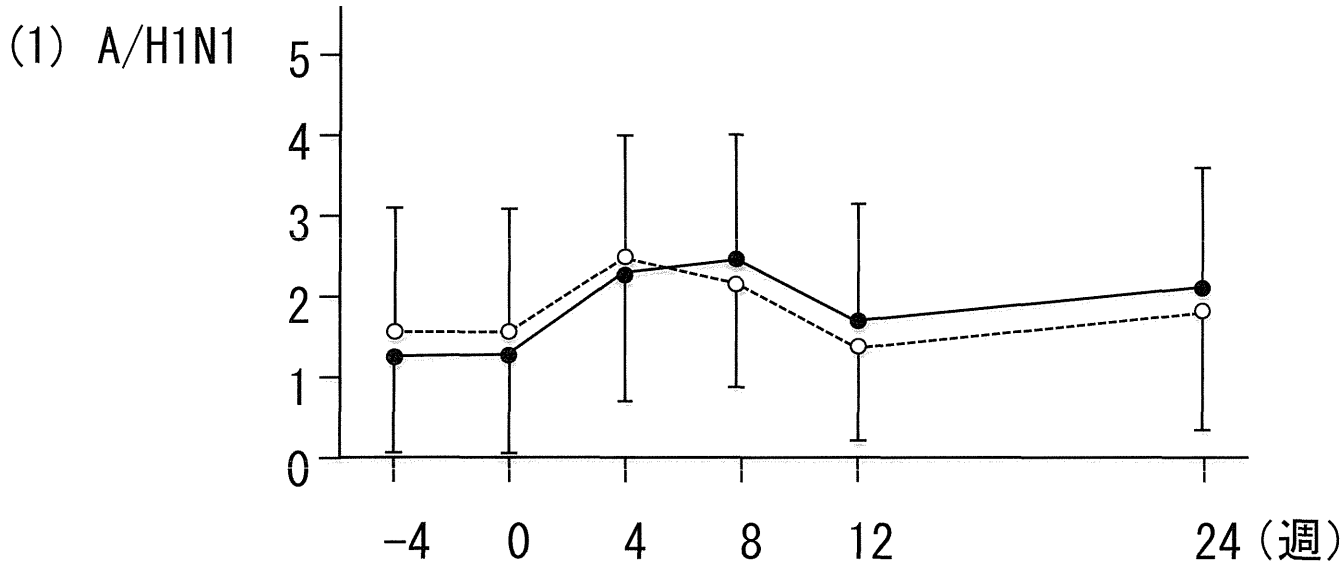


図1 十全大補湯投与群 (●) と漢方薬非投与群 (○) のインフルエンザワクチン接種後から24週における各HI価の推移の比較 (抗体価を順序データとして変換し、mean±S. D. で表示)



## 漢方薬の自然免疫ならびに獲得免疫に及ぼす影響に関する研究

### 研究分担者

後藤 博三 医療法人 北聖病院 漢方内科

（平成 23 年度まで富山大学医学部和漢診療学講座 准教授）

済木 育夫 富山大学和漢医薬学総合研究所病態生化学分野 教授

### 研究要旨

漢方薬の自然免疫ならびに獲得免疫に及ぼす影響に関する研究」を検討する上で、本事業において次の 3 研究を実施した。

1. 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では、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に入院中の 39 名。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。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、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。

2. 高齢者におけるインフルエンザワクチンに対する漢方薬のアジュバント作用の短期効果の検討では、高齢者などのインフルエンザのハイリスクグループに対する漢方薬のインフルエンザワクチンアジュバントとしての可能性を多面的に解析し、多施設において漢方薬非投与症例と比較検討した。長期療養型病床に入院中の患者でインフルエンザワクチン接種予定者 46 名で十全大補湯投与群、補中益気湯投与群、漢方薬非投与群の 3 群に分け 12 週間経過観察した。インフルエンザワクチン接種前、接種後 4 週、8 週、12 週に HI 価を測定した。また、副反応に及ぼす影響の検討のため血中 IgE-RIST、血液生化学検査を実施した。その結果、陽転率の推移を検討したところ、接種後 4 週の A (H3N2) の陽転率は十全大補湯投与群で非投与群に比較して上昇傾向 ( $P < 0.1$ ) が認められた。このことから、十全大補湯は、抗体価の低い高齢者のインフルエンザワクチン接種後の抗体価上昇に好影響を及ぼしている可能性が示唆された。

3. 尿路感染症患者における尿中サイトカインに及ぼす抗生剤と漢方薬の比較検討では、尿路における局所免疫として作用する尿中サイトカインに着目して、漢方薬投与前後の尿中サイトカインを検討し、尿路感染に対する漢方薬の作用機序の検討を試みた。対象は尿路感染を繰り返す高齢慢性膀胱炎患者 10 名で、薬物の投与に関してはクロスオーバーデザインとし、膀胱炎症状増悪時に 1 日あたり猪苓湯 7.5g を分 3 かミノマイシン 100mg を分 1 で 7 日間投与した。調査項目は各薬剤の投与前後に尿を採取し、尿中の IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 と尿中白血球数を測定した。

結果は猪苓湯投与前後で IL-1 $\beta$  が減少傾向 ( $p < 0.1$ ) を示した。ミノマイシン投与前後で IL-8 は有意な減少 ( $p < 0.01$ ) を認め、IL-1 $\beta$  は減少傾向 ( $p < 0.1$ ) を示した。今回の検討で、両薬剤とも炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$  の減少傾向を認めた。しかし、ミノマイシン投与時には有意に低下した IL-8 は猪苓湯投与前後で変化なく、猪苓湯は抗生剤による抗菌作用と異なる機序で炎症を改善している可能性が示唆された。

#### A. 研究目的

「漢方薬の自然免疫ならびに獲得免疫に及ぼす影響に関する研究」を検討する上で、本事業において次の 3 研究を実施する。

1. 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：本研究では、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生剤による除菌は、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。

2. 高齢者におけるインフルエンザワクチンに対する漢方薬のアジュバント作用の短期効果の検討：本研究では、高齢者などのインフルエンザのハイリスクグループに対する漢方薬のインフルエンザワクチンアジュバントとしての可能性を (1) 抗体産生の増加効果、(2) 抗体産生の持続効果、(3) 副反応の軽減効果、(4) 交差性抗体群の誘導可能なワクチンアジュバントの開発の各項目を中心として多面的に解析し、多施設において漢方薬非投与症例と比較する短期効果の検討を実施する。

3. 尿路感染症患者における尿中サイトカインに及ぼす抗生剤と漢方薬の比較検討：長期臥床患者はしばしば尿路感染症を繰り返し、栄養摂取の障害や敗血症により全身状態の悪化の一因となっている。一方、尿路感染時には尿中の IL-6 や IL-8 などのサイトカインが上昇することが報告されている。これら因子は、尿路感染時に尿路局所で産生され、尿路における局所免疫として、生体防御に関与していることが示唆されている。本研究では、漢方薬投与前後の尿中サイトカインを検討し、抗生剤投与時と比較検討することで、尿路感染に対する漢方薬の作用機序の検討を試みる。