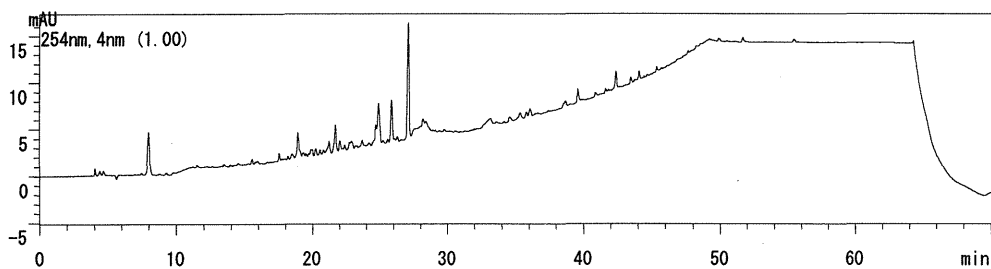
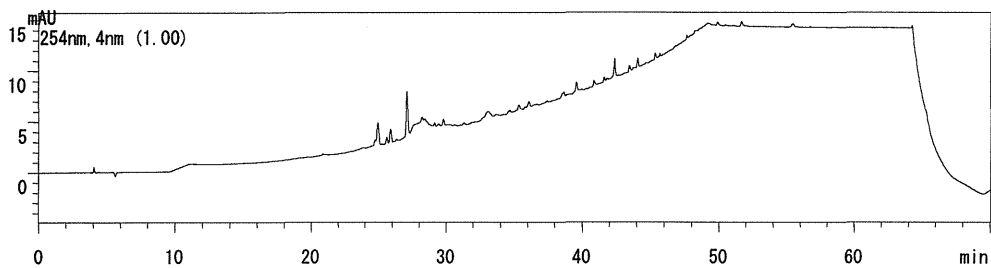


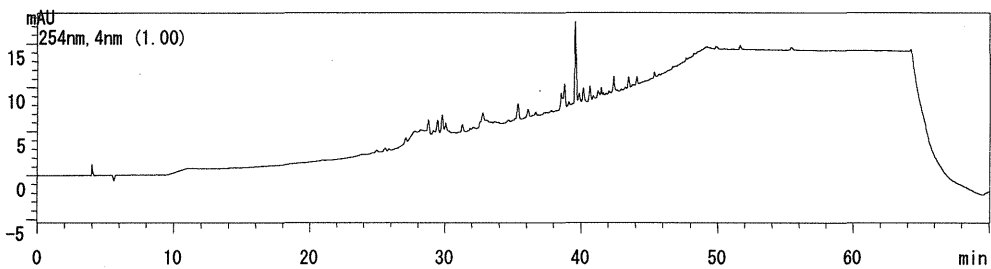
K37-4 六君子湯煎出エキス (50%MeOH溶出画分-1) UV254



K37-5 六君子湯煎出エキス (50%MeOH溶出画分-2) UV254



K37-6 六君子湯煎出エキス (MeOH溶出画分-1) UV254



K37-7 六君子湯煎出エキス (MeOH溶出画分-2) UV254

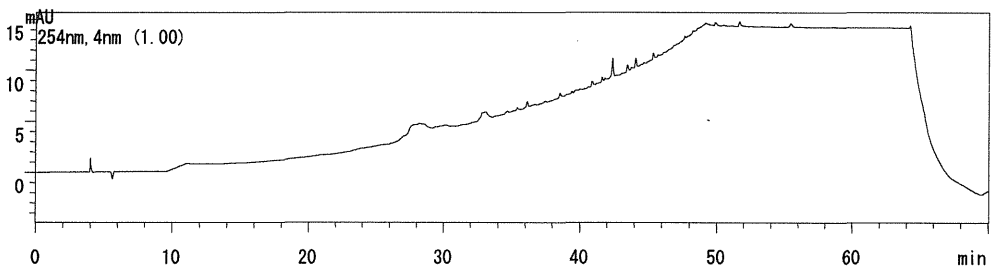
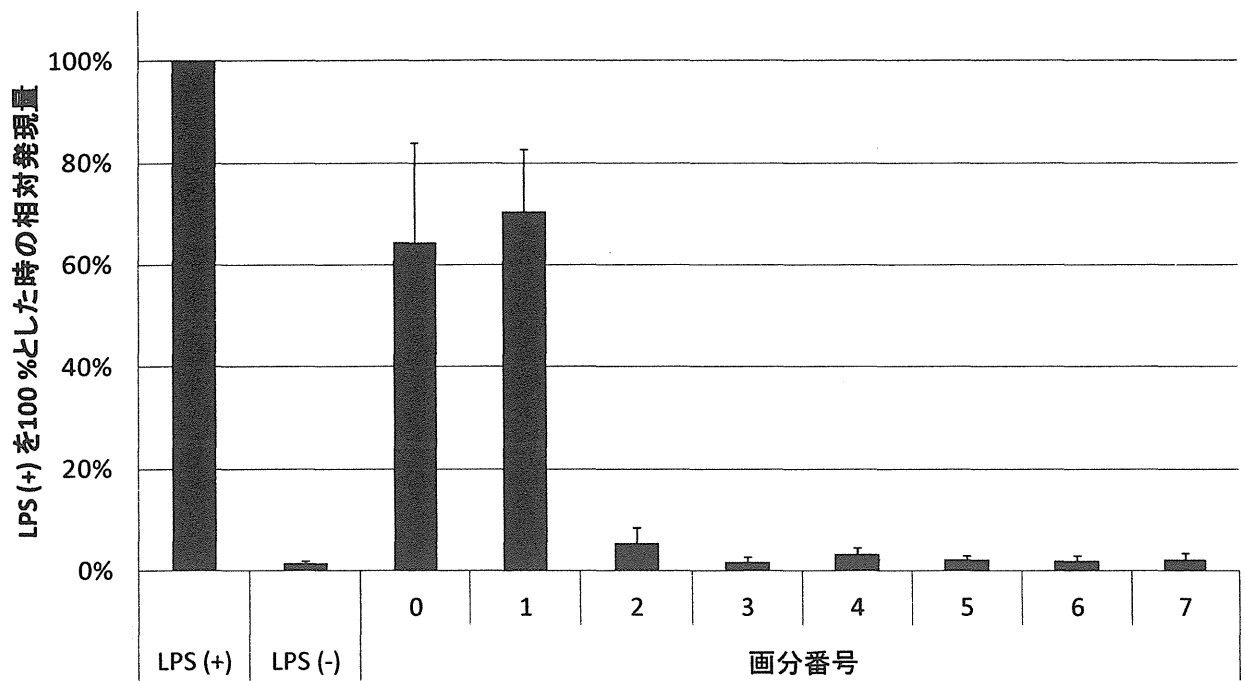


図 9 逆相 HPLC カラムによる六君子湯煎出エキスの Oasis HLB による固相抽出画分の LC-PDS 分析 (2/2)



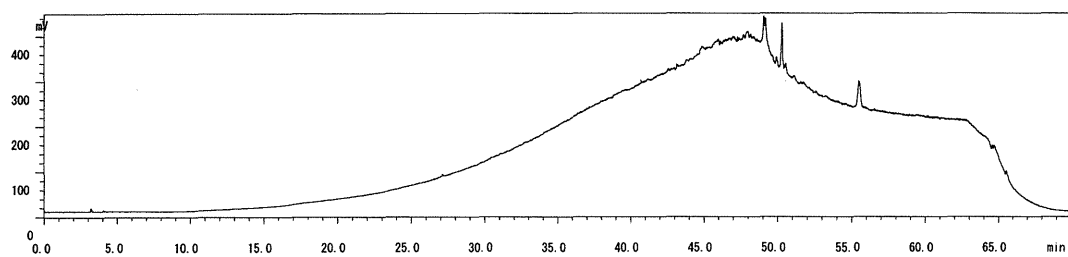
画分番号(溶出順)	0	1	2	3	4	5	6	7
溶出溶媒	分画前 サンプル	ロード 非保持	milliQ 水		50% MeOH		100% MeOH	

図 10 半夏煎出エキスの Oasis HLB による固相抽出画分の IL-10 誘導活性

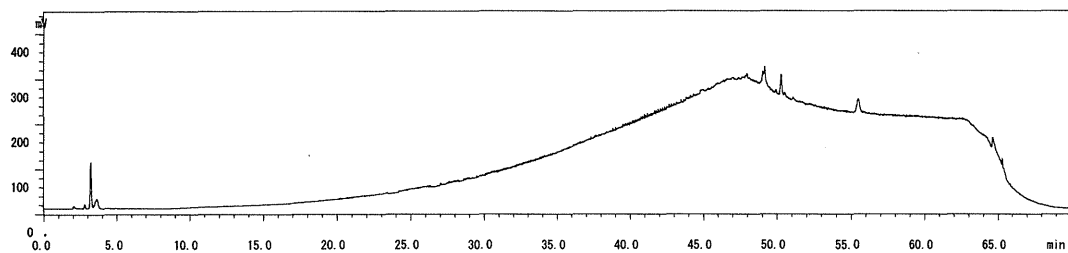
画分番号 0 : 半夏煎出エキス (分画前)、画分番号 1 : 半夏煎出エキス (非保持画分)、画分番号 2 : 半夏煎出エキス (水溶出画分-1)、画分番号 3 : 半夏煎出エキス (水溶出画分-2)、画分番号 4 : 半夏煎出エキス (50%MeOH 溶出画分-1)、画分番号 5 : 半夏煎出エキス (50%MeOH 溶出画分-2)、画分番号 6 : 半夏煎出エキス (MeOH 溶出画分-1)、画分番号 7 : 半夏煎出エキス (MeOH 溶出画分-2)

値は平均±S.D. (n=3)

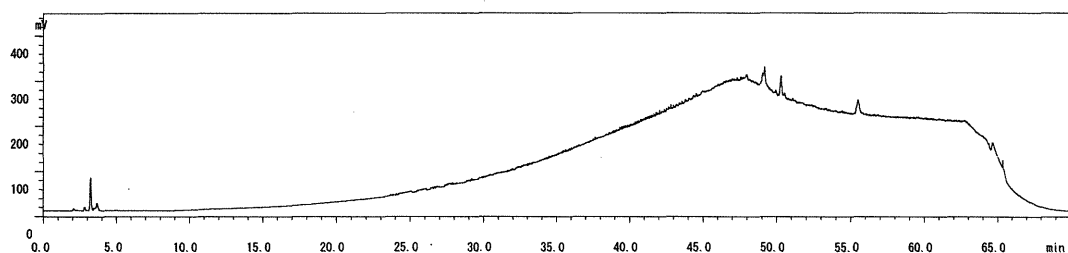
MeOH ブランク CAD



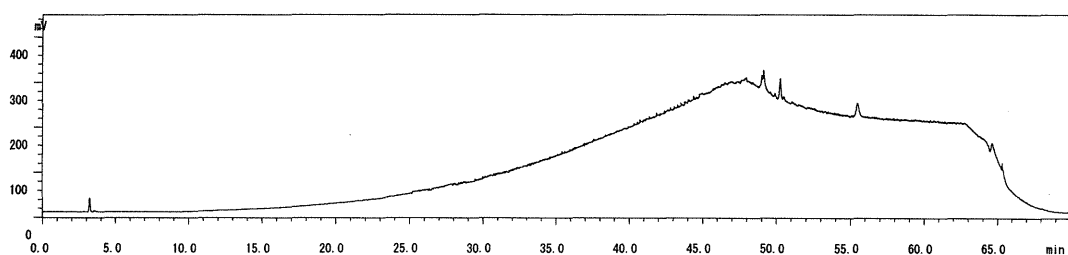
S42-0 半夏煎出エキス (分画前) CAD



S42-1 半夏煎出エキス (非保持画分) CAD



S42-2 半夏煎出エキス (水溶出画分-1) CAD



S42-3 半夏煎出エキス (水溶出画分-2) CAD

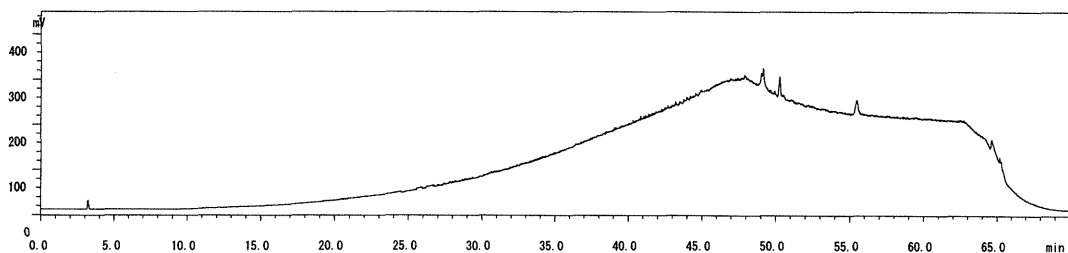
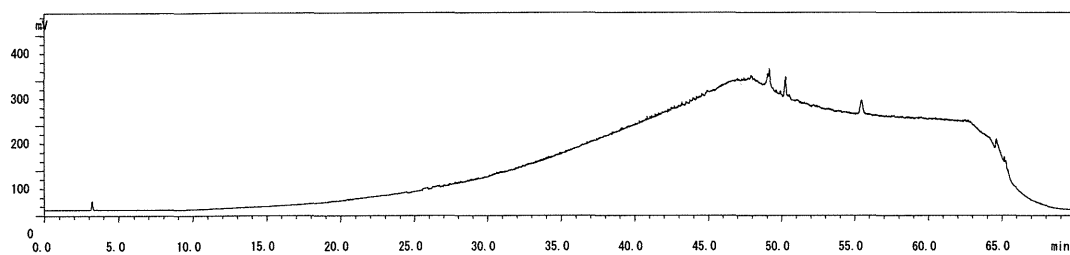
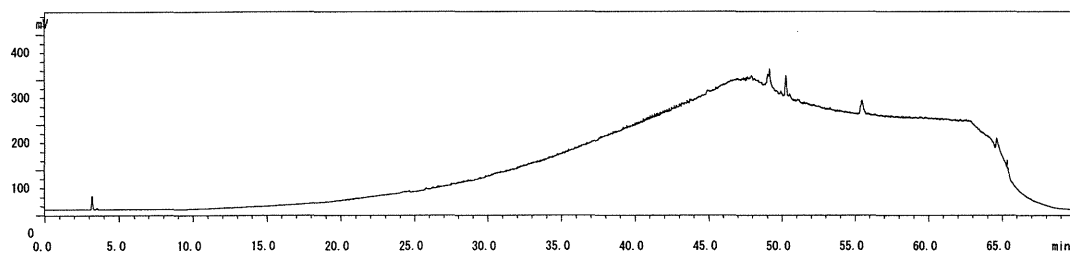


図 11 逆相 HPLC カラムによる半夏煎出エキスの Oasis HLB による固相抽出画分の LC-CAD 分析 (1/2)

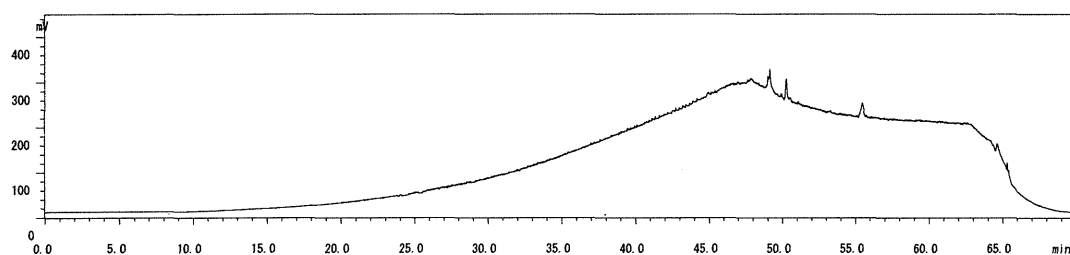
S42-4 半夏煎出エキス (50%MeOH溶出画分-1) CAD



S42-5 半夏煎出エキス (50%MeOH溶出画分-2) CAD



S42-6 半夏煎出エキス (MeOH溶出画分-1) CAD



S42-7 半夏煎出エキス (MeOH溶出画分-2) CAD

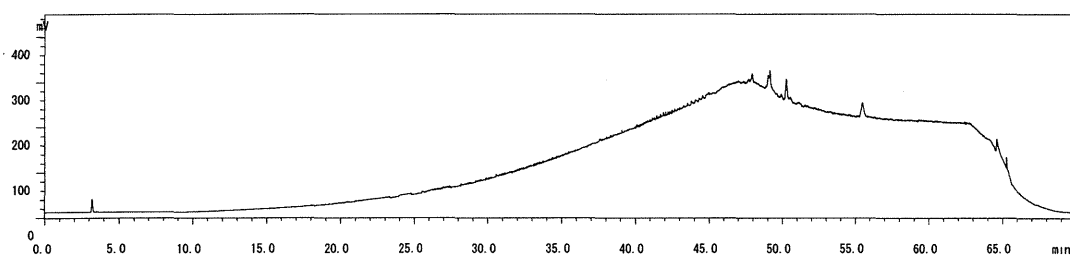
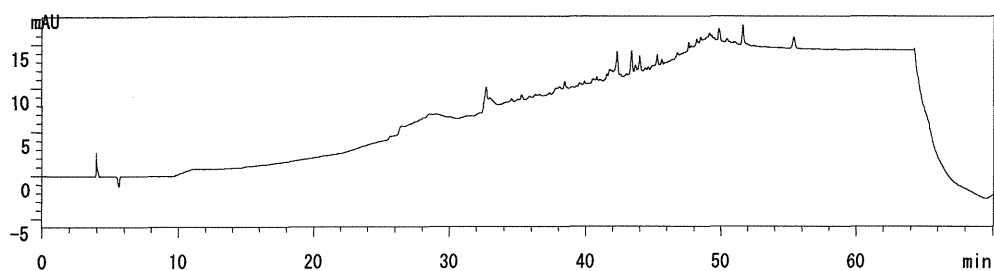
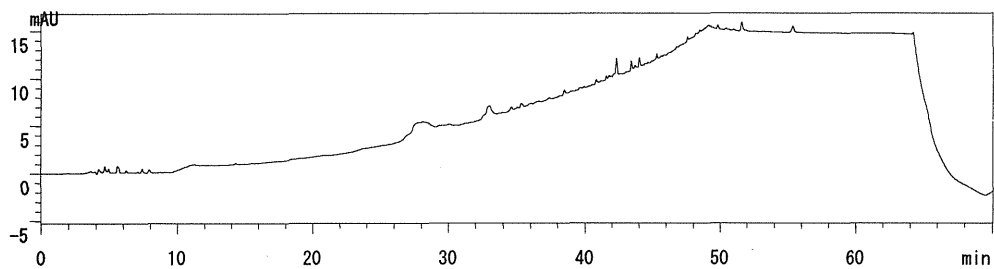


図 11 逆相 HPLC カラムによる半夏煎出エキスの Oasis HLB による固相抽出画分の LC-CAD 分析 (2/2)

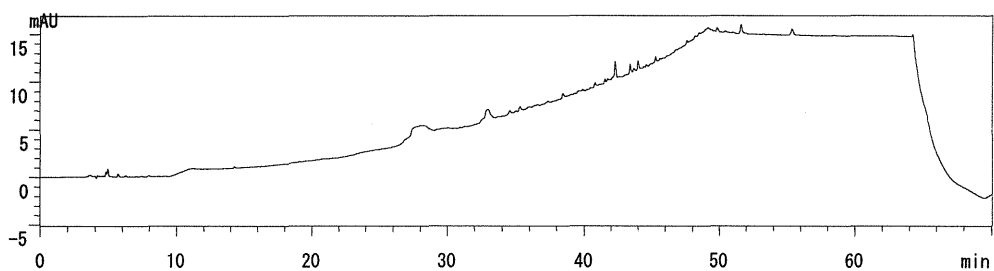
MeOH ブランク UV254



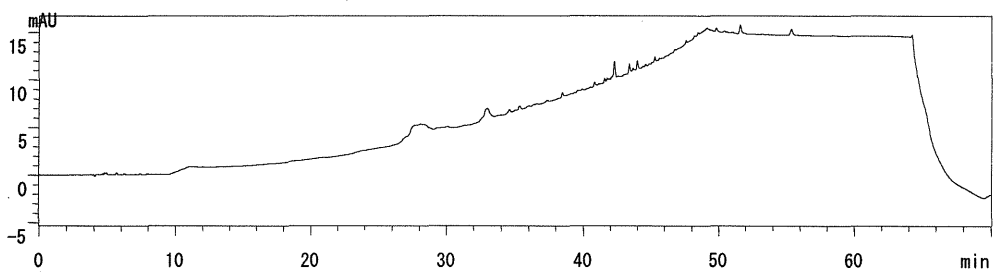
S42-0 半夏煎出エキス (分画前) UV254



S42-1 半夏煎出エキス (非保持画分) UV254



S42-2 半夏煎出エキス (水溶出画分-1) UV254



S42-3 半夏煎出エキス (水溶出画分-2) UV254

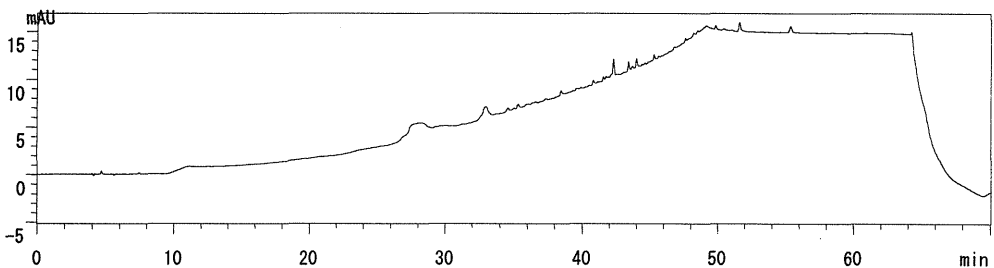
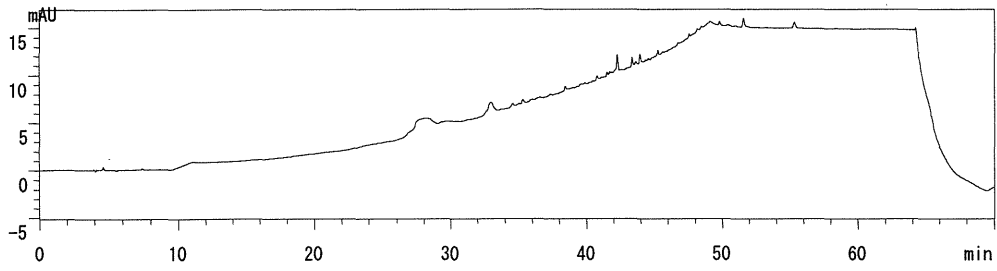
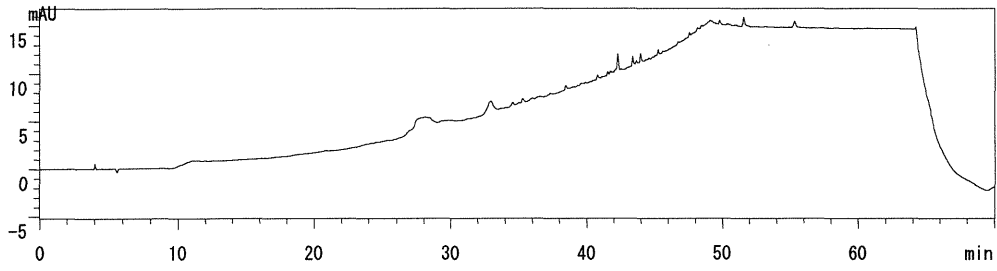


図 12 逆相 HPLC カラムによる半夏煎出エキスの Oasis HLB による固相抽出画分の LC-PDS 分析 (1/2)

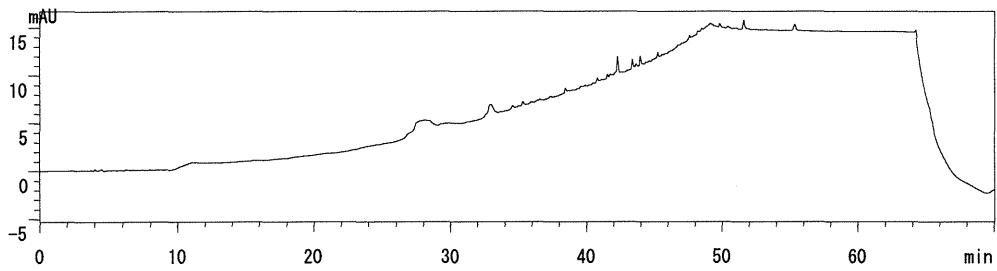
S42-4 半夏煎出エキス (50%MeOH溶出画分-1) UV254



S42-5 半夏煎出エキス (50%MeOH溶出画分-2) UV254



S42-6 半夏煎出エキス (MeOH溶出画分-1) UV254



S42-7 半夏煎出エキス (MeOH溶出画分-2) UV254

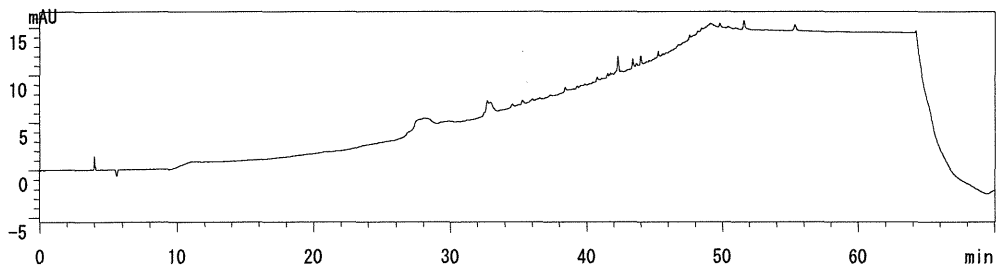


図 12 逆相 HPLC カラムによる半夏煎出エキスの Oasis HLB による固相抽出画分の LC-PDS 分析 (2/2)

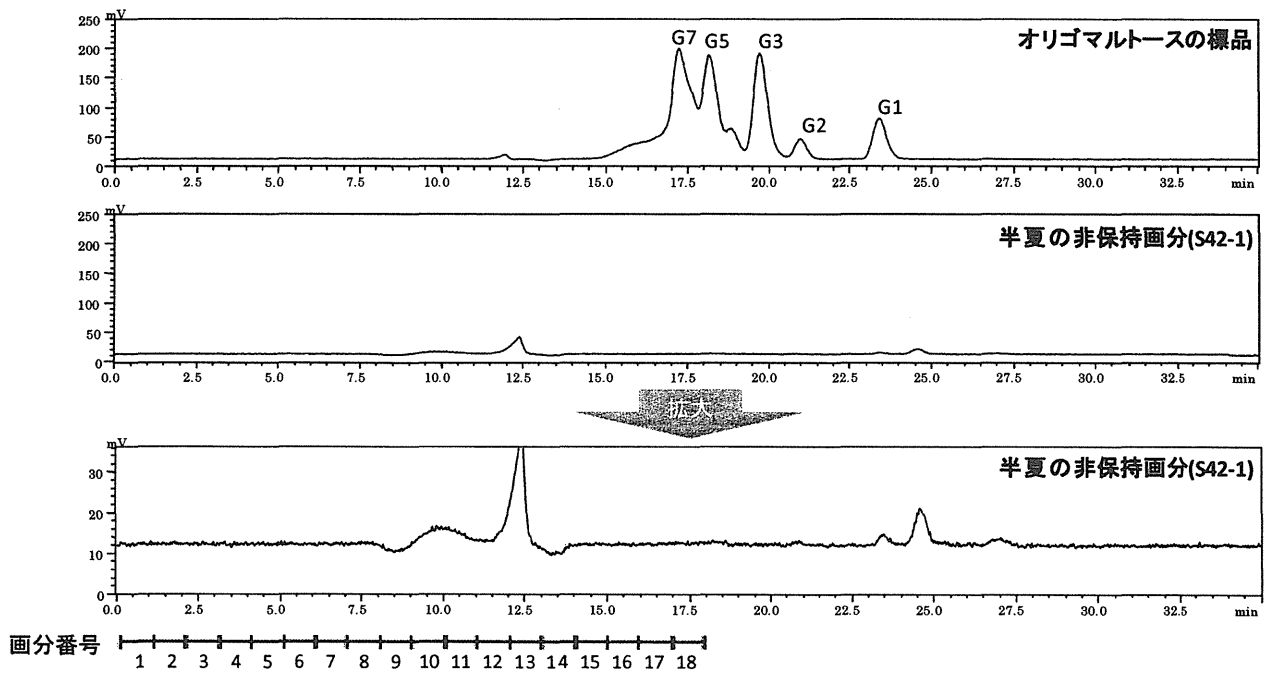


図 13 配位子交換カラム (SUGAR KS-802) による半夏単味煎出エキスの Oasis HLB 非保持画分の LC-CAD 分析

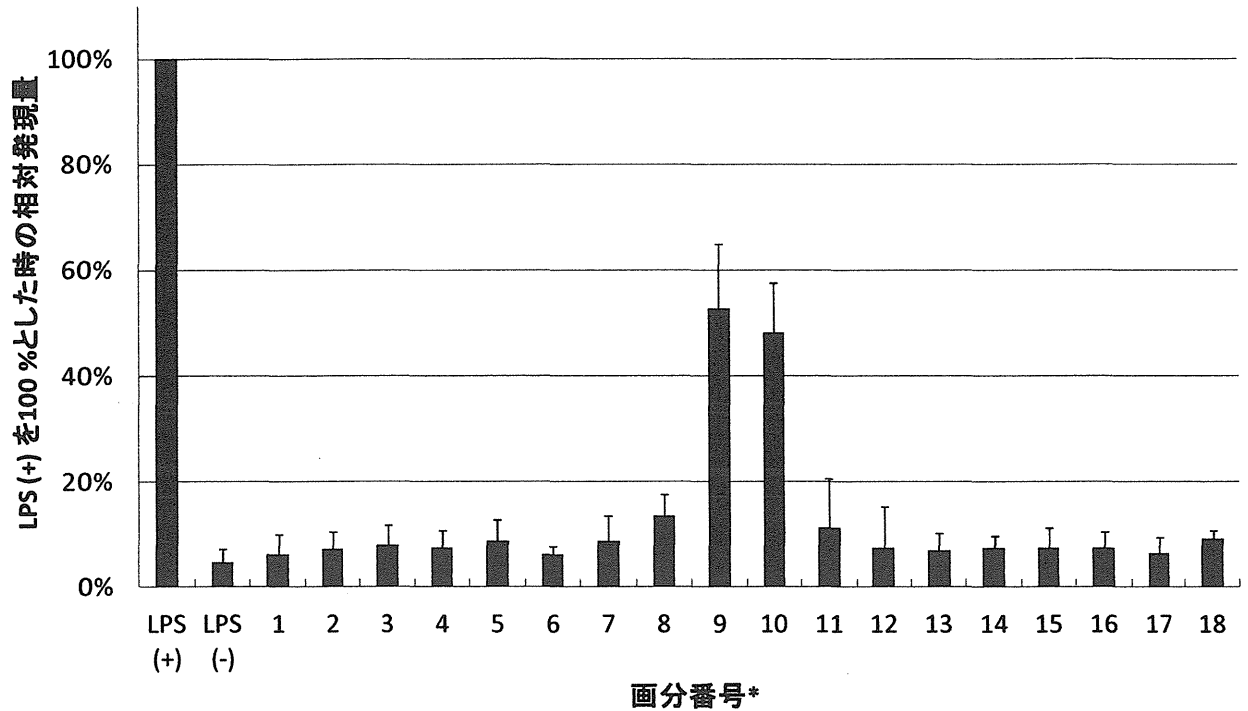


図 14 配位子交換カラム (SUGAR KS-802) による半夏単味煎出エキスの分離分取とその IL-10 誘導活性

S07-1 乾姜煎出エキスの Oasis HLB 非保持画分及び K35-1 附子理中湯の Oasis HLB 非保持画分の SUGAR KS-802 カラムによる分取フラクション

*ロード後 1 分ごとにフラクションを回収

値は平均±S. D. (n=3)

表1 六君子湯エキス 50 μg 中に含まれる各構成生薬単味エキス量の期待値

六君子湯 配合生薬	処方1日量中 の配合量 (g)	乾燥エキス 収率 (%)	処方1日量中の生薬により得られる エキス量の期待値 (g)	処方エキス50 μg に含まれる 生薬エキスの期待値 (μg)
S39 人参	4	25.0	0.998	12.0
S44 白朮	4	32.9	1.316	15.8
S45 茯苓	4	0.45	0.018	0.22
S42 半夏	4	6.7	0.268	3.2
S34 陳皮	2	25.3	0.506	6.1
S31 大棗	2	40.4	0.808	9.7
S07 乾姜	1	22.2	0.222	2.7
S25 生姜	0.5	4.05	0.020	0.24

単味で煎出した場合のエキス収率から、六君子湯煎出エキスの1日量に含まれるエキス重量の期待値を算出し、そのエキス収量期待値の構成比に従って六君子湯煎出エキス 50 μg を割り振ることにより、六君子湯煎出エキス 50 μg に含まれる各構成生薬の煎出エキス重量期待値を求めた。

分担研究課題 生薬及び生薬製剤の品質確保と安全性・有効性等に関する研究

分担研究者 袴塚 高志 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

小腸上皮細胞におけるサイトカイン発現に影響を及ぼす漢方処方に関する研究

漢方処方の品質確保と安全性・有効性に関する研究の一環として、腸内環境への影響について検討するため、小腸上皮細胞様培養細胞におけるサイトカインの発現に着目した *in vitro* アッセイ系の構築を試みた。ヒト小腸上皮細胞株 Caco-2 における炎症性サイトカインの発現を惹起する刺激として TNF- α 処理について検討し、Interleukin-6 及び 8 の発現が誘導されることを見出した。また、漢方処方スクリーニングの予備実験として、Caco-2 細胞における漢方処方凍結乾燥エキスの細胞毒性について検討した。100 μ g/mL の濃度ではほとんど毒性を示さず、250 μ g/mL において黄連解毒湯、三黄瀉心湯及び大黄甘草湯が強い細胞毒性を示すことを見出した。

A. 研究目的

高齢者の全人口に占める割合が増加し、国民の健康ニーズも多様化している中、天然物由来で高齢者や生活習慣病患者に受け入れられやすい漢方処方が注目されている。一般用医薬品を利用するセルフメディケーションに改めて国民の注目が集まる中、一般用漢方製剤の有効性や安全性をいかに担保し、品質をいかに確保していくか、という問題が今後益々重要になるものと思われる。

厚生労働省は、平成 14 年に一般用医薬品承認審査合理化等検討会を開催し、その中間報告として、「セルフメディケーションにおける一般用医薬品のあり方について 提言-具体的な方策-」を公表し、その具体的な方策の一つとして、一般用漢方処方の見直しとその積極的な活用を提言している。我々は、これに対して厚生労働科学研究費補助金による研究班報告書として「新一般用漢方処方の手引き案（改訂版）」（平成 20 年 3 月）を公表したが、この報告書を基盤とした厚生労働省薬事・食品衛生審議会一般用医薬品部会の審議において、昭和 40 年代末に公表された一般用漢

方処方承認内規の約 30 年振りの見直しと新規処方の承認基準収載が検討され、その結果、平成 20 年 9 月 30 日薬食審査発第 0930001 号通知、平成 22 年薬食審査発 0401 第 2 号通知、平成 23 年 4 月 15 日薬食審査発 0415 第 1 号通知及び平成 24 年 8 月 30 日薬食審査発 0830 第 1 号通知として、一般用漢方製剤承認基準が発出されている。これらの通知は従来 210 処方に加えて、「新一般用漢方処方の手引き案（改訂版）」において承認基準への追加収載を提案された 85 処方のうち 80 処方が収載されている。

一般用漢方製剤承認基準に収載された処方は、長年の臨床使用経験により有効性・安全性を担保されているが、この経験的な保証に加え、現代科学的視点による評価を付与することが必要と思われる。我々はこれに対して、漢方処方の腸内環境への関与という新たな視点で考察を進め、現在までに、腸内細菌の生育及び有機酸生産に対する漢方処方の影響、小腸上皮細胞におけるトランスポーター遺伝子の発現に対する影響について検討している。さらに、小腸上皮細胞の周辺に局在

し、腸内の炎症反応に深く関与するマクロファージ細胞に着目し、そのサイトカイン産生に対する影響についても検討している。今回は、小腸上皮細胞における炎症性サイトカインの発現に着目し、その影響について検討するための *in vitro* アッセイ系の構築を試みたので報告する。

B. 研究方法

試薬

ヒト腸上皮細胞様細胞株 Caco-2 及び Non Essential Amino Acids (NEAA) は大日本住友製薬より購入した。DMEM 培地、0.25% Trypsin-EDTA (1 mM EDTA・4Na) 及び Penicillin-Streptomycin 溶液は Invitrogen より購入した。ウシ胎児血清 (FBS) は、カナダ Cansera 社製の CCT-Fetal Bovine Serum を三光純薬より購入した。Caco-2 細胞の分化培養には、BD の BioCoat 腸上皮分化エンバイロメントキットを用いた。Tumor Necrosis Factor- α human (human TNF- α , expressed in yeast, T0157) は SIGMA-ALDRICH より購入した。細胞毒性試験には、Roche の細胞増殖 ELISA BrdU 発色キットを用いた。0.45 μ m 孔のメンブランフィルターは MILLIPORE Ultrafree-CL Centrifugal Filter Units UFC40HVOS を用いた。24 穴マルチプレート (FALCON MULTIWELL™ 24well) は BD バイオサイエンスより購入した。100mm シャーレ、96 穴プレート及びセルスクレーパーは旭テクノグラス製のものを用いた。その他の試薬は、いずれも各試薬メーカーの特級品を用いた。

機器

生薬を煎じる際には、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。細胞は SANYO の CO₂ インキュベーター MCO-5AC で培養し、SANYO のクリーンベンチ MCV-91BNF 内で無菌操作を行った。電気化学発光法によるサイトカインの定量には、Meso Scale Discovery 社のプレートリーダー Sector Imager 2400 を用いた。細胞毒

性試験における吸光度測定には、モレキュラーデバイス社のプレートリーダー SPECTRAmax190 を用いた。

漢方処方エキス調製

表 1 に示した処方構成で生薬をポット (らくらく煎) に取り、生薬総重量の 20 倍量の水を入れ、半量になるまで煎じた。この煎出液をナス型フラスコに入れ、-45°C で予備凍結させた後、凍結乾燥させて漢方処方エキスを調製した。

検体試料溶液の調製

漢方処方の凍結乾燥エキスは 5mg/mL の濃度で血清抜きの RPMI1640 培地 (100 units/mL penicillin、100 μ g/mL streptomycin) に溶解させ、孔径 0.45 μ m のメンブランフィルターによりろ過し、検体試料原液を調製した。細胞に投与する際は、この原液を血清抜きの RPMI1640 培地 (100 units/mL penicillin、100 μ g/mL streptomycin) にて適切な濃度へ希釈した後を用いた。

TNF- α は 50ng/mL の濃度で血清抜きの RPMI1640 培地 (100 units/mL penicillin、100 μ g/mL streptomycin) に溶解させ、孔径 0.45 μ m のメンブランフィルターによりろ過し、検体試料原液を調製した。

細胞培養

Caco-2 細胞の培養は、DMEM 培地 (10% FBS、1% NEAA、100 units/mL penicillin、100 μ g/mL streptomycin) で、37°C、5% CO₂、暗黒下に行った。継代する際は、Trypsin-EDTA (0.25% Trypsin、1 mM EDTA・4Na) により 5 分間処理して細胞を浮遊・分散させ、新鮮培地に 1/5~1/20 の希釈倍率で播種した。

Caco-2 細胞の上皮細胞への分化誘導は、BD 社の BD BioCoat 腸上皮分化エンバイロメントキットを用い、フィブリコラーゲンマトリックスをコートしたメンブランインサート上で行った。24 穴

タイプのフィブリコラーゲンコートインサートに 4×10^5 cells/mL の濃度で、 2×10^5 cells/500 μ L/Insert で細胞を播種し、DMEM 培地で 24 時間培養した後、キット添付の分化誘導培地に交換し、さらに 48 時間培養して上皮細胞へ分化させた。

検体投与及び収穫

分化した Caco-2 細胞が培養されているインサート側の培地、あるいはウェル側の培地を TNF- α を含む培地と交換し、処理をスタートさせた。処理前 (0 時間)、処理 3 時間及び処理 6 時間において、インサート側及びウェル側より 55 μ L ずつ培地を収穫した。収穫した培地中のサイトカイン量は、Meso Scale Discovery 社の 96-Well Human Cytokine Assays Tissue Culture Kit に従って測定した。サイトカイン濃度は、Kit 添付のサイトカイン標準液より得た検量線を基準に算定した。サイトカイン定量における細胞処理実験は独立に 3 回行った。

細胞毒性試験

細胞毒性試験においては、DMEM 培地 (10% FBS、1% NEAA、100 units/mL penicillin、100 μ g/mL streptomycin) で、96 穴プレートに 1.0×10^3 cells/100 μ l/well の濃度で細胞を播種し、37 $^{\circ}$ C、5% CO₂、暗黒下に 24 時間培養した後を用いた。

96 穴プレートから DMEM 培地を吸引除去し、最終濃度が 100、250 及び 500 μ g/ml となるように希釈した検体試料溶液を 100 μ l/well で投与した。対照区には血清抜きの RPMI1640 培地 (100 units/mL penicillin、100 μ g/mL streptomycin) を 100 μ l/well で投与した。この状態で 24 時間培養した後、Roche の細胞増殖 ELISA BrdU 発色キットに従って、細胞毒性を評価した。試験は独立して 3 回行い、その平均値を評価に使用した。細胞毒性は、対照区の細胞生存率との比で表現した。

倫理面への配慮

本研究はで用いるヒト培養細胞はいずれも株

化されて全世界で汎用される細胞であり、倫理面を考慮すべき研究材料ではない。

C. 研究結果

ヒト小腸上皮細胞株 Caco-2 における炎症性サイトカインの誘導

BD 社の BioCoat 腸上皮分化エンバイロメントキットは 24 穴のウェルにフィブリコラーゲンコートのインサートを乗せ、インサート内部を小腸の管腔側、インサート下部 (ウェル側) を小腸外側の血管側に見立てて、Caco-2 細胞を分化させるシステムである (図 1)。インサート側あるいはウェル側のどちらか一方から 50ng/mL の TNF- α で処理した Caco-2 細胞について、インサート側及びウェル側に分泌されたサイトカイン (IL-1 β 、IL-12p70、INF γ 、IL-6、IL-8 及び IL-10) の濃度を測定した (表 2)。TNF- α の処理濃度 (50ng/mL) は種々の文献を参考にして決定した。インサート側に TNF- α を投与したところ、IL-8 がインサート側に分泌された。IL-6 も量は少ないが誘導されていた。IL-8、IL-6 共に、ウェル側への分泌は少なかった。また、ウェル側に TNF- α を投与した場合は、いずれのサイトカインもほとんど誘導されなかった。

ヒト小腸上皮細胞株 Caco-2 に対する漢方処方エキスの細胞毒性

TNF- α 処理によって惹起される炎症性サイトカインを指標に漢方処方エキスのスクリーニングを行うに先立ち、それぞれの漢方処方エキスの Caco-2 細胞に対する細胞毒性について検討した。表 3 に示す通り、100 μ g/mL の濃度では、ほとんどの処方が Caco-2 細胞に対する毒性を示さなかった。一方、250 μ g/mL では、黄連解毒湯、三黄瀉心湯及び大黄甘草湯がそれぞれ無処理細胞の生存率に対して 47.3%、8.8%及び 40%の生存率を示し、毒性を持つことが分かった。

D. 考察

我々は漢方処方の腸内環境に及ぼす影響について様々な角度より検討している。本研究で用いた腸上皮細胞分化システムは、フィブリコラーゲンコートの上でCaco-2細胞を極性分化させ、小腸の中と外を *in vitro* で再現するモデル系である。この系を用いて炎症性腸疾患と漢方処方の関わりについて検討することが本研究の一つの目的である。近年患者数が増加しつつある炎症性腸疾患は、発症あるいは病態増悪の原因が未解明であり、現在のところ、遺伝的要因、腸内細菌の関与、食品あるいは医薬品により誘起される炎症、腸管細胞における血流障害、若しくは炎症性サイトカインの関与等が候補に挙がっている。1つの仮説として、炎症性腸疾患では、酸化ストレスや炎症性サイトカインなど様々な刺激が腸管上皮細胞に作用し、それらの刺激によって炎症性サイトカインであるIL-8が過剰に分泌され、そのIL-8が好中球などの免疫細胞を誘引し、誘引された免疫細胞から分泌される活性酸素種や炎症性サイトカインが再び腸管上皮細胞に作用する、といった炎症ループが腸炎症の病態を悪化させていると考えられている。

本研究では単純化のためにTNF- α のみの刺激で予備実験を行ったが、炎症発生時には様々な因子が同時多発的に腸管上皮細胞を刺激するものと考えられるため、今後は、IL-1 β 、TNF- α 、過酸化水素及びLPS等の炎症メディエーターについて、単独あるいは複合的に作用させたときの応答を検討する必要があるかも知れない。これらの検討により適切なモデル系を構築した上で、漢方処方エキスのスクリーニングに進む予定である。

E. 結論

一般用漢方処方の有効性・安全性に関する研究の一環として、ヒト小腸上皮細胞モデルを用い、炎症性サイトカインの発現を指標としたスクリーニング系を構築するための基礎的検討を行った。TNF- α 処理によりCaco-2細胞のIL-8及びIL-6の発現が誘導されることを見出した。また、

腸内の生理的な濃度として常識的な範囲である100 μ g/mLにおいて31品目の漢方処方エキスがほとんどCaco-2細胞に対して細胞毒性を示さないことが分かった。これらを勘案し、また、TNF- α 以外の刺激についても検討することで、Caco-2細胞分化培養系を用い、炎症性サイトカインの発現に対する漢方処方エキスの影響を検討するスクリーニング系構築の見通しが立った。

F. 研究発表

1. 学会発表
該当無し
2. 誌上発表
該当無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

図1 BD BioCoat 腸上皮分化エンバイロメントキット模式図

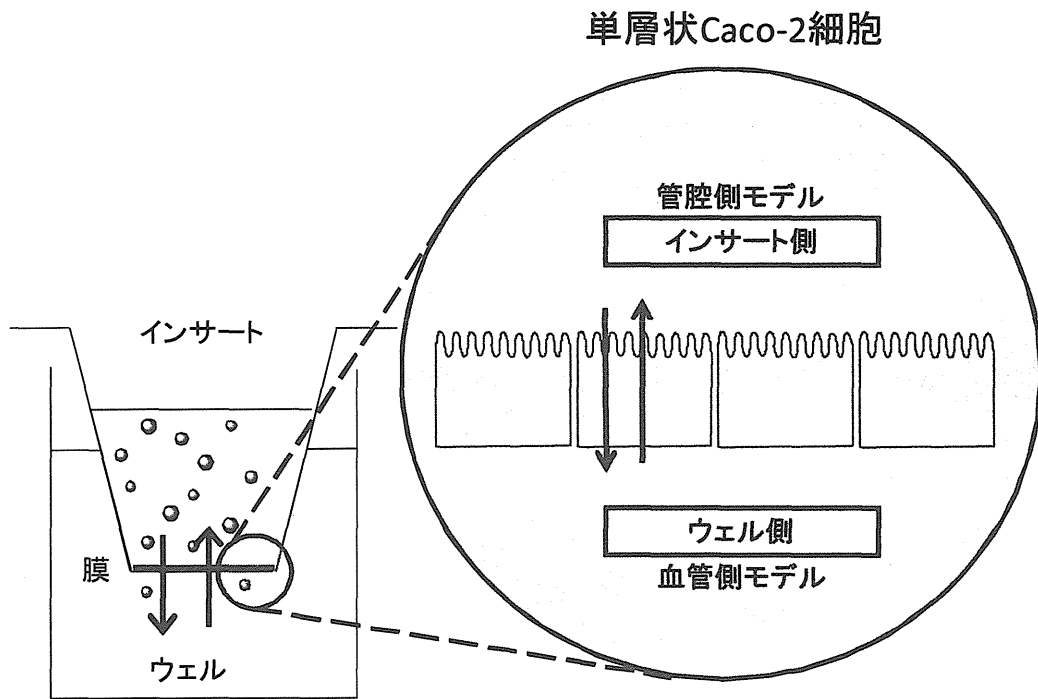


表1 Caco-2細胞に対する細胞毒性を検討した漢方処方(1/2)

通し 番号	処方 番号	処方名	処方構成(エキス調製に用いたg数)
1	1	胃風湯	当帰(3)、芍薬(3)、川芎(3)、人参(3)、白朮(3)、茯苓(4)、桂皮(2)、粟(2)
2	2	胃苓湯	蒼朮(2.5)、厚朴(2.5)、陳皮(2.5)、猪苓(2.5)、沢瀉(2.5)、白朮(2.5)、茯苓(2.5)、桂皮(2)、大棗(1.5)、生姜(1.5)、甘草(1)
3	3	温清飲	当帰(4)、地黄(4)、芍薬(3)、川芎(3)、黄芩(3)、山梔子(2)、黄連(1.5)、黄柏(1.5)
4	4	黄耆建中湯	桂皮(4)、生姜(1)、大棗(4)、芍薬(6)、甘草(2)、膠飴(20)、黄耆(4)
5	5	黄連解毒湯	黄連(1.5)、黄柏(1.5)、黄芩(3)、山梔子(2)
6	6	黄連湯	黄連(3)、甘草(3)、乾姜(3)、人参(3)、桂皮(3)、大棗(3)、半夏(6)
7	7	乙字湯	当帰(6)、柴胡(5)、黄芩(3)、甘草(2)、升麻(1.5)、大黄(1)
8	8	葛根黄連黄芩湯	蘇葉(1)、葛根(6)、黄連(3)、黄芩(3)、甘草(2)
9	9	加味逍遙散	当帰(3)、芍薬(3)、白朮(3)、茯苓(3)、柴胡(3)、牡丹皮(2)、山梔子(2)、甘草(1.5)、生姜(1)、薄荷(1)
10	10	甘草瀉心湯	半夏(5)、黄芩(2.5)、乾姜(2.5)、人参(2.5)、甘草(3.5)、大棗(2.5)、黄連(1)
11	11	桂枝加芍薬大黄湯	桂皮(4)、芍薬(6)、大棗(4)、生姜(1.5)、甘草(2)、大黄(1)
12	13	啓脾湯	人参(3)、白朮(4)、茯苓(4)、蓮肉(3)、山藥(3)、山査子(2)、陳皮(2)、沢瀉(2)、甘草(1)
13	14	五苓散	沢瀉(6)、猪苓(4.5)、茯苓(4.5)、白朮(4.5)、桂皮(3)
14	15	三黄瀉心湯	大黄(1)、黄芩(1)、黄連(1)
15	16	四逆散	柴胡(5)、芍薬(4)、枳実(2)、甘草(1.5)
16	17	滋血潤腸湯	当帰(4)、地黄(4)、桃仁(4)、芍薬(3)、枳実(2)、蕪(2)、大黄(1.5)、紅花(1)

表1 Caco-2細胞に対する細胞毒性を検討した漢方処方(2/2)

通し 番号	処方 番号	処方名	処方構成(エキス調製に用いたg数)
17	19	参苓白朮散	人参(3)、山薬(3)、白朮(4)、茯苓(4)、蓮肉(3)、 薏苡仁(8)、扁豆(3)、桔梗(2.5)、縮砂(2)、甘草(1.5)
18	21	柴苓湯	柴胡(7)、半夏(5)、生姜(1)、黄芩(3)、大棗(3)、 人参(3)、甘草(2)、沢瀉(5)、猪苓(3)、茯苓(3)、 白朮(3)、桂皮(2)
19	22	十全大補湯	人参(3)、黄耆(3)、白朮(3)、茯苓(3)、当帰(3)、 地黄(3)、芍薬(3)、川芎(3)、桂皮(3)、甘草(1.5)
20	23	小建中湯	桂皮(4)、生姜(1)、大棗(4)、芍薬(6)、甘草(2)、 膠飴(20)
21	24	小承気湯	大黄(2)、枳実(2)、厚朴(3)
22	25	真武湯	茯苓(5)、芍薬(3)、生姜(1)、白朮(3)、加工附子(1)
23	27	大黄甘草湯	大黄(4)、甘草(1)
24	28	大黄牡丹皮湯	大黄(2)、牡丹皮(4)、桃仁(4)、芒硝(4)、冬瓜子(6)
25	29	大建中湯	山椒(2)、乾姜(5)、人参(3)、膠飴(20)
26	32	桃核承気湯	桃仁(5)、桂皮(4)、大黄(3)、芒硝(2)、甘草(1.5)
27	33	人参湯(理中丸)	人参(3)、甘草(3)、白朮(3)、乾姜(3)
28	34	半夏瀉心湯	半夏(5)、黄芩(2.5)、乾姜(2.5)、人参(2.5)、 甘草(2.5)、大棗(2.5)、黄連(1)
29	36	麻子仁丸	麻子仁(5)、芍薬(2)、枳実(2)、厚朴(2)、 大黄(4)、杏仁(2)
30	37	六君子湯	人参(4)、白朮(4)、茯苓(4)、半夏(4)、陳皮(2)、 大棗(2)、甘草(1)、生姜(0.5)
31	38	甘露飲	熟地黄(2.5)、乾地黄(2.5)、麦門冬(2.5)、枳実(2.5)、 甘草(2.5)、茵陳蒿(2.5)、枇杷葉(2.5)、石斛(2.5)、 黄芩(2.5)、天門冬(2.5)

表2 Caco-2 細胞に対する細胞毒性を検討した漢方処方 (2/2)

検体処理		処理内容 (測定場所)			サイトカイン
投与 場所	処理 時間	TNF- α 処理 (インサート側)	TNF- α 処理 (ウェル側)	RPMI培地処理 (インサート側)	
イン サ ー ト 側	0時間	0.0	0.0	0.0	IL-1 β
		0.1	0.0	0.0	IL-12p70
		2.0	0.0	0.0	IFN γ
		1.5	0.8	0.8	IL-6
		2.8	2.5	2.6	IL-8
		0.1	0.0	0.0	IL-10
	3時間	0.0	0.0	0.0	IL-1 β
		0.1	0.0	0.0	IL-12p70
		0.5	0.0	0.0	IFN γ
		4.6	1.2	0.9	IL-6
		38.8	4.7	3.9	IL-8
		0.0	0.0	0.0	IL-10
	6時間	0.0	0.0	0.0	IL-1 β
		0.1	0.0	0.0	IL-12p70
		1.8	0.0	0.0	IFN γ
		10.4	1.8	1.0	IL-6
		130.4	5.7	4.8	IL-8
		0.0	0.0	0.0	IL-10
ウ ェ ル 側	0時間	0.0	0.0	0.0	IL-1 β
		0.1	0.1	0.1	IL-12p70
		0.1	1.0	0.0	IFN γ
		0.8	1.6	0.8	IL-6
		0.0	0.0	0.0	IL-8
		0.0	0.0	0.0	IL-10
	3時間	0.0	0.0	0.0	IL-1 β
		0.1	0.2	0.1	IL-12p70
		0.9	2.8	0.5	IFN γ
		0.9	1.6	0.8	IL-6
		0.0	0.3	0.0	IL-8
		0.0	0.1	0.0	IL-10
	6時間	0.0	0.0	0.0	IL-1 β
		0.1	0.1	0.1	IL-12p70
		0.8	2.8	0.3	IFN γ
		1.0	2.5	0.8	IL-6
		0.1	5.0	0.0	IL-8
		0.0	0.1	0.0	IL-10

表3 漢方処方エキスの Caco-2 細胞に対する細胞毒性 (1/3)

漢方処方	処理濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	無処理細胞に対する 相対生存率
胃風湯	100	92.8%
いふうとう	250	121.6%
	500	107.7%
胃苓湯	100	126.7%
いれいとう	250	93.1%
	500	91.2%
温清飲	100	87.1%
うんせいいん	250	80.4%
	500	23.6%
黄耆建中湯	100	93.6%
おうぎけんちゅうとう	250	87.0%
	500	81.8%
黄連解毒湯	100	70.0%
おうれんげどくとう	250	47.3%
	500	22.0%
黄連湯	100	84.1%
おうれんとう	250	77.6%
	500	88.1%
乙字湯	100	112.4%
おつじとう	250	66.2%
	500	9.8%
葛根黄連黄芩湯	100	138.3%
かつこんおうれんおうごんとう	250	77.8%
	500	5.9%
加味逍遙散	100	132.1%
かみしょうようさん	250	130.7%
	500	99.7%
甘草瀉心湯	100	95.7%
かんぞうしゃしんとう	250	77.8%
	500	7.1%
桂枝加芍薬大黄湯	100	84.2%
けいしかしゃくやくだいおうとう	250	84.5%
	500	42.9%
啓脾湯	100	79.7%
けいひとう	250	62.6%
	500	87.9%
五苓散	100	84.4%
ごれいさん	250	82.4%
	500	86.3%
三黄瀉心湯	100	84.7%
さんおうしゃしんとう	250	8.8%
	500	5.1%

表3 漢方処方エキスの Caco-2 細胞に対する細胞毒性 (2/3)

漢方処方	処理濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	無処理細胞に対する 相対生存率
四逆散	100	110.7%
しぎやくさん	250	100.7%
	500	96.2%
滋血潤腸湯	100	137.5%
じけつじゆんちやうとう	250	121.3%
	500	99.1%
参苓白朮散	100	164.3%
じんれいびやくじゆつさん	250	158.4%
	500	125.0%
柴苓湯	100	90.0%
さいれいとう	250	133.1%
	500	11.9%
十全大補湯	100	88.9%
じゆうぜんだいほとう	250	94.0%
	500	101.8%
小建中湯	100	111.3%
しょうけんちゆうとう	250	101.1%
	500	101.2%
小承気湯	100	99.5%
しょうじょうきとう	250	92.4%
	500	41.8%
真武湯	100	94.2%
しんぶとう	250	84.7%
	500	80.5%
大黄甘草湯	100	100.2%
だいおうかんぞうとう	250	40.4%
	500	6.3%
大黄牡丹皮湯	100	89.3%
だいおうぼたんぴとう	250	77.1%
	500	57.0%
大建中湯	100	105.1%
だいけんちゆうとう	250	98.2%
	500	89.9%
桃核承気湯	100	87.0%
とうかくじょうきとう	250	80.8%
	500	46.9%
人参湯	100	84.6%
にんじんとう	250	75.7%
	500	69.3%
半夏瀉心湯	100	87.9%
はんげしゃしんとう	250	60.7%
	500	33.2%

表3 漢方処方エキスの Caco-2 細胞に対する細胞毒性 (3/3)

漢方処方	処理濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	無処理細胞に対する 相対生存率
麻子仁丸	100	75.7%
ましにんがん	250	66.1%
	500	54.8%
六君子湯	100	103.6%
りっくんしとう	250	100.1%
	500	75.1%
甘露飲	100	94.7%
かんろいん	250	90.8%
	500	91.7%