

volunteers. *Drug Metab. Dispos.*, 39 : 1784-1788, 2011.

15) Kono, T. et al.: Anti-colitis and-adhesion effects of

daikenchuto via endogenous adrenomedullin enhancement in Crohn's disease mouse model. *J. Crohns Colitis.*, 4 : 161-170, 2010.

* * *

3

消化管疾患に対する漢方医療の実際

(4) イレウス

河野 透*

Key words: 漢方, 大建中湯, イレウス, 山椒, 乾姜

要旨

エビデンス重視の現代医療で漢方は注目を集めてきている。その契機となったのが大建中湯の薬効機序に関する分子レベルの研究で、腸管運動に関与する神経伝達物質以外にも山椒や乾姜の成分が腸管粘膜上皮細胞から内因性ペプチドやセロトニンを動員し、腸管血流や腸管運動を改善、術後の炎症反応を抑制することが明らかとなった。これを契機に米国、日本で複数のプラセボ二重盲検臨床試験が行われ、大建中湯の腸管運動改善効果が証明されつつある。さらに、薬物動態を明らかにするため大建中湯の吸収試験が行われ、山椒や乾姜の有効成分が吸収されることも明らかとなった。大建中湯を術後早期に使用することでイレウス発症を抑制することが期待される。

あった。米国でも癒着性イレウスがもっとも多く、本邦と同様である。術後イレウスは早期の麻痺性イレウスとその後の癒着性イレウスが含まれるが、創感染とともに入院期間延長原因として医療経済学的にも解決すべき重要な問題点として最近クローズアップされてきている。

本稿で取り上げるイレウスはおもに開腹手術後のイレウスである。術後ほぼ全例に発生する麻痺性イレウスは腸管運動が消失し、腸管内容物が停滞することで腸管拡張が生じるものである。腸管運動は内輪、外縦の二つの平滑筋層によって起こる蠕動である。アウエルバッハ神経叢とマイスナー神経叢を中心にカハール介在細胞がペースメーカーとなり制御されている。手術ストレスによって交感神経優位となり腸管運動が抑制されると考えられている。また、手術による用手的操作、器械的操作などによって腸管壁に炎症が起こり、一酸化窒素やプロスタグランジン E₂ (PGE₂) が高度に生成され平滑筋収縮能を抑制することも原因であるともいわれている¹⁾。

一方、癒着性イレウスに関して炎症に伴うインターフェロン γ が主原因のサイトカインであるという動物モデルでの報告もあるが²⁾、未だに本質的な機序解明には至っていない。腸管の

はじめに — 麻痺性イレウスと癒着性イレウス

語源がギリシア語であるとされるイレウス(腸閉塞)は腸管内容物が滞る病気の総称で、腸管閉塞機転の有無により、機械的イレウスと機能的イレウスに大別される。日本において2万人以上いるイレウス患者の全国集計によると癒着性イレウスが60%でそのうち、手術既往のある者が98%以上、その大半に消化管手術既往が

*札幌東徳洲会病院先端外科センター
(〒065-0033 北海道札幌市東区北三十三条東14丁目3番1号)

用手的擦過など物理的刺激，乾燥による影響などが要因ではないかと考えられ，物理的刺激や乾燥を起こしにくい腹腔鏡手術が推奨されているのもこれらの点を配慮したためである。

また，早期離床が癒着性イレウスに有利であることは経験的にわかっていたことだが，その理由として炎症を起こした腸管同士や他臓器との接触時間が長くなると癒着が発生するリスクが高まることから体位変換することで接触時間を短縮し，癒着発生を防いでいると考えられている。したがって，術後の麻痺性イレウスが遷延することは癒着発生点からも不利であり，早期に麻痺性イレウスを改善することは癒着性イレウスを軽減することに役に立つことは明らかである。

I. 歴史的経緯

この項のポイント

- 成分レベルおよび分子レベルまでの機序解明は行われてこなかった。

イレウスの治療に大建中湯だいけんちゅうとうが使用され始めたのは1990年代である。大建中湯が薬価基準収載されたのが1986年であり，当時から腸管運動改善作用が期待されて使用されてきた。とくに，イレウス管から大建中湯溶解液を流し込むことでイレウスが改善される症例が多く，数多くの症例報告がなされたのもこの時期である。同時期に機序解明も始まり，腸管運動に参与するアセチルコリン，サブスタンスP，カルシトニン遺伝子関連ペプチドなど神経伝達物質やモチリン分泌作用などが相次いで発表された^{3)~8)}。

しかしながら，基礎的研究において成分レベルおよび分子レベルまでの機序解明は行われてこなかった。臨床研究においてもエビデンスレベルとしては低く，プラセボ対照の二重盲検試験は行われてこなかった。さらに，医学部での

漢方教育も広まっておらず，多くの医師たちにとってハリやお灸などと同じ代替医療として位置づけられてきた。また，中国の中医と漢方の違いが理解されていないことから，安全性や品質に関して懐疑的な意見も多かった。さらに，1990年代に漢方のなかで肝炎の特効薬的扱いを受け一世を風靡していた小柴胡湯しょうさいことうが間質性肺炎で死亡例を出してから，「漢方は効かないかもしれないが安全である」というそれまでの神話が大きく崩れ，一気に漢方熱は冷めてしまった。その風潮を打破したのが大建中湯である⁹⁾。

II. 大建中湯

この項のポイント

- 日本独自に変遷してきた大建中湯は，中国の中医にある大建中湯とはまったく異なる生薬内容である。

日本独自に500年かけて変遷してきた大建中湯の語源は中国の中医(四千年の歴史)に始まり，消化管(中)を大きく建て直す(大建)という意味である⁹⁾。含まれる生薬しょうやくはすべて食材で，中医にある大建中湯とはまったく異なる。人參・山椒・乾姜・膠飴にんじん さんしょう かんきょう こういの4種類から構成されており，保険適用は腹部の冷えと腹部膨満感の二つである。

III. 薬理作用機序

この項のポイント

- 腸管粘膜上皮細胞からADMとセロトニンを放出させることで腸管血流増加と腸管運動亢進作用を発現させている。

これから述べていく大建中湯はツムラで抽出されたものである。漢方薬の特色として抽出方法には企業努力によるということがあり，また，品質管理においても各社にバラツキがあることも事実である。大建中湯の薬効生薬(山椒，乾姜，

人参)はあわせても10%未満で、残り90%はマルトースやラクトースなどの糖類である。

1. CGRP への作用

最初にわれわれが着目したのは、大建中湯によって刺激される神経ペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチドのCGRP (calcitonin gene related peptide)である。CGRPはヒトが有するもっとも強い血管拡張作用をもつ神経ペプチドとして知られている¹⁰⁾。そこで機序解明の突破口としてこの神経ペプチドCGRPが大建中湯の腹部の冷えの改善作用に関与しているという仮説をもとに研究を進めた。すぐにその仮説は立証されることになったが、受容体に関してCGRPだけでなくCGRP受容体関連因子も大建中湯によって刺激を受けることが明らかとなった。

2. CGRP 受容体

CGRPの受容体は恒常的に存在せず、未成熟な受容体であるCRLR (calcitonin receptor-like receptor)が成熟化するプロセスが必要で、その成熟化にはRAMP (receptor activity-modifying membrane protein)が必須である。RAMPには3種類のタイプがあり、RAMP1が出現し成熟化に関与するとCGRP受容体になるが、RAMP2、RAMP3が出現し成熟化に関与するとCGRPと同じカルシトニン・ファミリー・ペプチドであるADM (adrenomedullin)の受容体に変化することが報告されていた。

われわれの実験結果から大建中湯によって3種のRAMPいずれも増加することが明らかとなり、カルシトニン・ファミリー・ペプチドの二つのペプチド、CGRPとADMおよびその受容体関連因子が大建中湯の血流改善機序に関

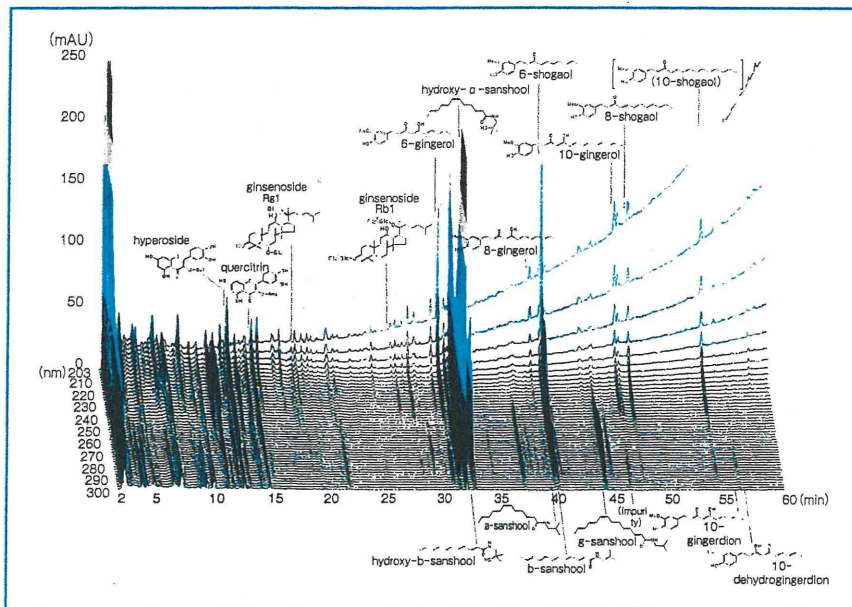


図1 大建中湯の主成分の3D-HPLC(3D高速液体クロマトグラフィー)による解析
 hydroxy- α -sanshool (Japanese pepper), 6-shogaol (processed ginger), ginsenoside Rb1 (ginseng radix), maltose (maltose powder)
 毒素, 殺虫剤, 微生物は検出されなかった。

[Kono, T., et al. : J. Gastroenterol. 46 ; 1187-1196, 2011¹³⁾より引用]

与していることが強く示唆された¹¹⁾。

3. CGRP, ADMの作用

両ペプチドの生理学的作用の共通点は多く、強い末梢血管拡張作用もその一つである。さらに CGRP は腸管運動亢進作用、分泌作用があり、ADM には抗炎症性サイトカイン作用がある。したがって、大建中湯の多彩な作用を理解するうえできわめて重要な鍵となる内因性ペプチドである。

両ペプチドの大きな違いは産生部位にある。CGRP はおもに神経終末など神経組織、ADM はおもに上皮細胞、平滑筋細胞など非神経組織である。大建中湯が腸管粘膜上皮細胞と感覚神経終末を刺激することで ADM と CGRP および受容体関連因子が動員され血流増加が起こることが推察された。

4. 薬効成分と ADM

次に腸管粘膜上皮培養細胞を用いた成分レベルでの解析を進めた。解析前に行った大建中湯の成分解析の結果、多くの薬効成分が含まれていることが判明した(図 1)。最初に、腸管粘膜上皮細胞が ADM を産生、放出することを確認し、大建中湯によって濃度依存性、時間依存性に ADM 産生、放出が起こり、生薬レベルでは山椒と乾姜が ADM 産生、放出を起こすことを確認した。さらに山椒と乾姜の主成分のランダム刺激試験を行い、hydroxy- α -sanshool と 6-shogaol が有効成分であることが判明した^{12), 13)}。

5. 腸管粘膜上皮細胞の刺激機序

次に腸管粘膜上皮細胞に対する刺激機序を明らかにした。そのヒントとなったのは生体センサーである TRP (transient receptor potential) チャンネルである。自然物の多くが特有の TRP

チャンネルを刺激するアゴニストとなっている。たとえば冷覚に関する TRPM8 チャンネルのアゴニストはハッカの成分メントールである。冷湿布で冷たいと感じるのは血流が低下するのではなくて冷湿布に含まれるメントールによって TRPM8 チャンネルが刺激され冷たいと感じるのである。

そこで漢方の原料となる自然物にも多くの TRP チャンネルに対する刺激物が含まれているという仮説をたて、ADM 産生、放出に関する hydroxy- α -sanshool と 6-shogaol の文献的検索を行った結果、TRPA1 と TRPV1 という二つのチャンネルのアゴニストであることが判明。次に腸管粘膜上皮細胞にこの二つのチャンネルが発現しているか否かを検討した結果、TRPA1 のみ強く発現し、TRPA1 のアゴニストで刺激すると ADM が放出されることが判明。一方、TRPV1 やほかの TRP チャンネルのアゴニストではまったく反応しないことから、hydroxy- α -sanshool と 6-shogaol が TRPA1 チャンネルを介して ADM を刺激していることが確認された。この研究過程で TRPA1 チャンネルを高発現している腸管粘膜上皮細胞としてエンテロクロマフィン細胞を同定確認した。

この細胞はセロトニンを分泌して腸管運動を亢進させることが知られている。そこで、大建中湯の腸管運動亢進作用がこのエンテロクロマフィン細胞の TRPA1 チャンネルを刺激し、セロトニン分泌を促すことで腸管運動亢進作用を発現していると考え、研究を進めた結果、hydroxy- α -sanshool と 6-shogaol が TRPA1 チャンネルを介してエンテロクロマフィン細胞からセロトニン分泌を促していることが明らかとなった。つまり、大建中湯は腸管粘膜上皮細胞から ADM とセロトニンを放出させることで腸管血流増加と腸管運動亢進作用を発現させている可能性が強く示唆された(図 2)。

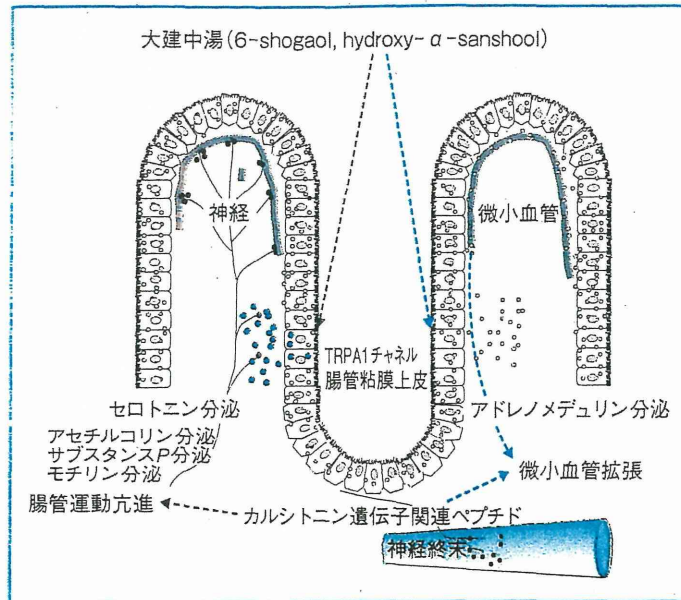


図2 大建中湯の腸管血流増加と腸管運動亢進作用の発現機序

6. PGE₂ 抑制作用

さらに、最近のわれわれの研究で乾姜の成分が強い PGE₂ 抑制作用があることが示唆されている。PGE₂ を抑制する機序として PGE₂ の原料となるアラキドン酸の産生を抑制することなどが明らかとなりつつある。PGE₂ は腸管運動の重要な担い手である平滑筋の動きを抑制することが知られていることから、大建中湯の術後早期の麻痺性イレウスに効果をもたらしている機序としてきわめて魅力的である。しかしながら、これら有効成分がどのようなルートで標的細胞に到達するのかが吸収試験を行うまで不明のままであった。

IV. 吸収試験 (薬理動態)

この項のポイント

- 血中に吸収されることで効果を発現している部分が相当数ある。

これまで、漢方を含めたハーバルメディシンにおいて薬物動態、吸収試験はまったく行われ

てこなかった。理由は技術的問題であった。最近のプロテオーム解析テクノロジーの発展によって可能となってきた。

最初に行ったのは健康人における大建中湯の吸収試験である^{14), 15)}。その結果、大建中湯の有効生薬である山椒の hydroxy- α -sanshool を含めて多くの成分が大量に瞬時に吸収され、血中濃度が高まることが判明。乾姜も 6-shogaol など多くの成分が吸収されるが比較的ゆっくり吸収され、その吸収率は山椒の成分に比べて遙かに小さいものであった。一方、人參成分はほとんどが吸収されないことが判明。また、肝臓や腸管にて乾姜の成分の多くが抱合されることも判明した。

次に動物レベルでも吸収試験を行い、同様の結果を得ただけでなく、回腸末端部まで到達した抱合体が腸内細菌によって脱抱合され、再度活性物質となり大腸に到達することが判明した。これまで大建中湯は直接的な働きが主体であると考えられてきたが、吸収されることで効

果を発現している部分が相当数あることが推察され、これまで説明できなかった臨床試験結果を説明できるようになった。

V. 臨床試験

この項のポイント

- エビデンスレベルが高い臨床試験で証明されている。

大建中湯が開腹手術後の腸閉塞の発生や再発を予防し、手術の必要性を減らす効果があることがいくつかのエビデンスレベルが高い臨床試験で証明されている。

1. クロスオーバー試験

単一施設において、胃がんで噴門部切除後の空腸パウチ間置術を行った17例を対象に、大建中湯投与15 g/dayあり、なしのランダム化クロスオーバー試験が行われ、大建中湯が液状物、固形物ともに胃からの排出を有意に促進し、パウチによる胃内容物停滞に伴う不快な症状を有意に改善する結果が得られた¹⁶⁾。

2. プラセボ対照試験

1) 腸閉塞例

単一施設において、154例の消化管開腹手術後早期に腸閉塞をきたした24例(16%)を、大建中湯を2週間15 g/day投与した群と、プラセボ投与群に分けたランダム化比較試験が行われ、大建中湯投与群はプラセボ群に比べ、腸閉塞手術の頻度が有意に50%以上減少したという結果が得られている。また、有意差はないものの腸閉塞の再燃頻度は大建中湯投与群で減少傾向が認められた¹⁷⁾。

2) 肝腫瘍例

全国26施設で行われたプラセボ対照二重盲検試験であるDKTフォーラムの一つであるJFMC40-1001試験は肝腫瘍で肝切した231例

を、大建中湯を術後3日目から1週間15 g/day投与した群と、プラセボ投与群に分けたランダム化二重盲検試験が行われ、排ガス出現時期を指標に腸管運動再開までの期間を比較した結果、大建中湯群が有意に改善する結果が得られた(2012年米国肝臓学会で発表)。

3) 健康人60人の例

手術後ではないが、大建中湯にとって大変重要な臨床試験が米国メイヨークリニックで行われた。健康白人60例を対象にプラセボ対照二重盲検試験がラジオアイソトープを使用して行われ、大建中湯を投与した群が有意に結腸排出、小腸運動促進効果を認められた。これまで、12種類の新薬について、腸管運動改善薬としてプラセボ投与群に分けたランダム化二重盲検試験が行われたがすべてネガティブな結果で、大建中湯が13番目の新薬として初めてポジティブな結果を出すことに成功した¹⁸⁾。

VI. 副作用

この項のポイント

- 発生率が0.1%以下で重篤なものは報告されていない。

米国食品医薬局(FDA)からの要請で大規模な大建中湯の副作用調査が最近行われたが、過去においても大規模調査が行われている。いずれも発生率が0.1%以下で重篤なものは報告されていない。重要なポイントとして併用時の注意として α -グルコシダーゼ阻害薬(糖尿病治療薬)との併用は同薬のおもな副作用である腹部膨満感を増悪させるので糖尿病患者の腸管運動改善を目的に大建中湯を投与するときは注意を要する¹⁹⁾。

おわりに

大建中湯は成分レベルの研究が着々と進んで

おり、薬物動態も明らかとなり、さらにはプラセボ対照二重盲検試験で薬効が証明されつつある²⁰⁾。とくに、術後の麻痺性イレウス改善や癒着性イレウス発生抑制効果が期待される。漢方が代替補完医療から脱出し、西洋薬と同じように使用される時代はもうそこまできている⁹⁾。しかしながら、漢方薬は合剤であり、各成分の組み合わせで効果を発揮していることは明らかで、残念ながらその点をエビデンスレベルで明快に説明できていない。将来の漢方薬の国際化に向けて必ず明らかにしなくてはならない大きな課題である。

文 献

- 1) Bauer, A. J., Schwarz, N. T., Moore, B. A., et al. : Ileus in critical illness : mechanisms and management. *Curr. Opin. Crit. Care* 8 ; 152-157, 2002
- 2) Kosaka, H., Yoshimoto, T., Fujimoto, J., et al. : Interferon-gamma is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. *Nat. Med.* 14 ; 437-441, 2008
- 3) Sato, Y., Katagiri, F., Inoue, S., et al. : Dai-kenchu-to raises levels of calcitonin gene-related peptide and substance P in human plasma. *Biol. Pharm. Bull.* 27 ; 1875-1877, 2004
- 4) Satoh, K., Hayakawa, T., Kase, Y., et al. : Mechanisms for contractile effect of Dai-kenchu-to in isolated guinea pig ileum. *Dig. Dis. Sci.* 46 ; 250-256, 2001
- 5) Satoh, K., Hashimoto, K., Hayakawa, T., et al. : Mechanism of atropine-resistant contraction induced by Dai-kenchu-to in guinea pig ileum. *Jpn. J. Pharmacol.* 86 ; 32-37, 2001
- 6) Jin, X. L., Shibata, C., Naito, H., et al. : Intraduodenal and intrajejunal administration of the herbal medicine, dai-kenchu-to, stimulates small intestinal motility via cholinergic receptors in conscious dogs. *Dig. Dis. Sci.* 46 ; 1171-1176, 2001
- 7) Shibata, C., Sasaki, I., Naito, H., et al. : The herbal medicine Dai-KenChu-Tou stimulates upper gut motility through cholinergic and 5-hydroxytryptamine 3 receptors in conscious dogs. *Surgery* 126 ; 918-924, 1999
- 8) Nagano, T., Itoh, H. and Takeyama, M. : Effect of Dai-kenchu-to on levels of 3 brain-gut peptides (motilin, gastrin and somatostatin) in human plasma. *Biol. Pharm. Bull.* 22 ; 1131-1133, 1999
- 9) Kono, T., Kanematsu, T. and Kitajima, M. : Exodus of Kampo, traditional Japanese medicine, from the complementary and alternative medicines : is it time yet? *Surgery* 146 ; 837-840, 2009
- 10) Brain, S. D. and Grant, A. D. : Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. *Physiol. Rev.* 84 ; 903-934, 2004
- 11) Kono, T., Koseki, T., Chiba, S., et al. : Colonic vascular conductance increased by Daikenchuto via calcitonin gene-related peptide and receptor-activity modifying protein 1. *J. Surg. Res.* 150 ; 78-84, 2008
- 12) Kono, T., Kaneko, A., Hira, Y., et al. : Anti-colitis and-adhesion effects of daikenchuto via endogenous adrenomedullin enhancement in Crohn's disease mouse model. *J. Crohn's & Colitis* 4 ; 161-170, 2010
- 13) Kono, T., Omiya, Y., Hira, Y., et al. : Daikenchuto (TU-100) ameliorates colon microvascular dysfunction via endogenous adrenomedullin in Crohn's disease rat model. *J. Gastroenterol.* 46 ; 1187-1196, 2011
- 14) Iwabu, J., Watanabe, J., Hirakura, K., et al. : Profiling of the compounds absorbed in human plasma and urine after oral administration of a traditional Japanese (kampo) medicine, daikenchuto. *Drug Metab. Dispos.* 38 ; 2040-2048, 2010
- 15) Munekage, M., Kitagawa, H., Ichikawa, K., et al. : Pharmacokinetics of daikenchuto, a traditional Japanese medicine (kampo) after single oral administration to healthy Japanese volunteers. *Drug Metab. Dispos.* 39 ; 1784-1788, 2011
- 16) Endo, S., Nishida, T., Nishikawa, K., et al. : Dai-kenchu-to, a Chinese herbal medicine, improves stasis of patients with total gastrectomy and jejunal pouch interposition. *Am. J. Surg.* 192 ; 9-13, 2006
- 17) Itoh, T., Yamakawa, J., Mai, M., et al. : The effect of the herbal medicine dai-kenchu-to on post-operative ileus. *J. Int. Med. Res.* 30 ; 428-432, 2002
- 18) Manabe, N., Camilleri, M., Rao, A., et al. : Effect of

daikenchuto (TU-100) on gastrointestinal and colonic transit in humans. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 298 ; G970-G975, 2010

- 19) 今津嘉宏：漢方療法のリスクマネジメント. 北島政樹 編：がん漢方. 176-192, 南山堂, 東京, 2012
- 20) 河野 透：がん治療を支える漢方薬のエビデンス. 北島政樹 編：がん漢方. 16-18, 南山堂, 東京, 2012

Summary

Daikenchuto and Postoperative Ileus

Toru Kono*

Kampo is gaining a measure of recognition in the modern medical community through validation by scientific evidence. This acceptance is driven in part by molecular studies elucidating the pharmacologic mechanisms of daikenchuto. These studies have identified neurotransmitters involved in intestinal motility. They have also identified the active constituents of Japanese pepper and dried ginger

which mobilize the endogenous calcitonin family of peptides and bring about serotonin release from intestinal epithelial cells, which improves blood flow and motility. They thereby intervene in the postoperative inflammatory cascade. Moreover, the results of these studies have led to a number of double-blind, placebo-controlled clinical trials in the United States and Japan to determine the effects of daikenchuto on accelerating intestinal motility. In addition, pharmacokinetic studies have revealed that the active constituents of Japanese pepper and dried ginger are absorbed from the gastrointestinal tract and enter the bloodstream. The administration of daikenchuto during early postoperative periods represents a potential advance in the management of postoperative ileus.

Key words: Kampo, daikenchuto, ileus, Japanese pepper, dried ginger

*Advanced Surgery Center, Sapporo Higashi Tokushukai Hospital, 3-1, North-33 East-14, Higashi-ku, Sapporo-shi, Hokkaido 065-0033, Japan

Epithelial transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)-dependent adrenomedullin upregulates blood flow in rat small intestine

Toru Kono,^{1,2} Atsushi Kaneko,^{2,3} Yuji Omiya,^{2,3} Katsuya Ohbuchi,³ Nagisa Ohno,³ and Masahiro Yamamoto³

¹Center for Clinical and Biomedical Research, Sapporo Higashi Tokushukai Hospital, Hokkaido, Japan; ²Division of Gastroenterologic and General Surgery, Department of Surgery, Asahikawa Medical University, Hokkaido, Japan; and ³Tsumura Research Laboratories, Tsumura and Co., Ibaraki, Japan.

Submitted 10 September 2012; accepted in final form 19 December 2012

Kono T, Kaneko A, Omiya Y, Ohbuchi K, Ohno N, Yamamoto M. Epithelial transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)-dependent adrenomedullin upregulates blood flow in rat small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 304: G428–G436, 2013. First published December 28, 2012; doi:10.1152/ajpgi.00356.2012.—The functional roles of transient receptor potential (TRP) channels in the gastrointestinal tract have garnered considerable attention in recent years. We previously reported that daikenchuto (TU-100), a traditional Japanese herbal medicine, increased intestinal blood flow (IBF) via adrenomedullin (ADM) release from intestinal epithelial (IE) cells (Kono T et al. *J Crohns Colitis* 4: 161–170, 2010). TU-100 contains multiple TRP activators. In the present study, therefore, we examined the involvement of TRP channels in the ADM-mediated vasodilatory effect of TU-100. Rats were treated intraduodenally with the TRP vanilloid type 1 (TRPV1) agonist capsaicin (CAP), the TRP ankyrin 1 (TRPA1) agonist allyl-isothiocyanate (AITC), or TU-100, and jejunal IBF was evaluated using laser-Doppler blood flowmetry. All three compounds resulted in vasodilatation, and the vasodilatory effect of TU-100 was abolished by a TRPA1 antagonist but not by a TRPV1 antagonist. Vasodilatation induced by AITC and TU-100 was abrogated by anti-ADM antibody treatment. RT-PCR and flow cytometry revealed that an IEC-6 cell line originated from the small intestine and purified IE cells expressed ADM and TRPA1 but not TRPV1. AITC increased ADM release in IEC cells remarkably, while CAP had no effect. TU-100 and its ingredient 6-shogaol (6SG) increased ADM release dose-dependently, and the effects were abrogated by a TRPA1 antagonist. 6SG showed similar TRPA1-dependent vasodilatation in vivo. These results indicate that TRPA1 in IE cells may play an important role in controlling bowel microcirculation via ADM release. Epithelial TRPA1 appears to be a promising target for the development of novel strategies for the treatment of various gastrointestinal disorders.

daikenchuto; TU-100; vasodilatation; 6-shogaol; inflammatory bowel diseases

TRANSIENT RECEPTOR POTENTIAL (TRP) channels are nonselective calcium ion channels ubiquitously expressed in many tissues and are known to participate in a broad range of physical, chemical, and environmental stimuli such as taste, temperature, changes in osmolarity, pressure, stretch, and light.

TRP channels are divided into seven subfamilies with 27 different channel types present in humans. Natural products, especially medicinal and culinary herbs such as chili pepper, mustard oil, and menthol, are known to stimulate some of these TRP channels. In recent years there has been a growing interest

in elucidating the role of TRP channels in gastrointestinal physiology, including intestinal motility, secretion, and visceral sensation (23, 24, 39, 53). However, the physiological implications of TRP channels in intestinal blood flow (IBF) remain largely unexplored.

Daikenchuto (TU-100), a traditional Japanese herbal medicine (Kampo), is a mixture of extract powders from dried Japanese pepper, processed ginger, ginseng radix, and maltose powder. TU-100 is the most frequently prescribed Kampo medicine in Japan, especially for the treatment of postoperative paralytic and adhesive ileus and ischemic intestinal disorders (28). Basic studies have demonstrated the effect of TU-100 on intestinal motility, adhesion, vasodilatation, inflammation, and bacterial translocation (15, 22, 25, 27, 29, 30, 38, 44–47, 51, 52, 58). In a previous study, we demonstrated that TU-100 increases IBF via enhancement of adrenomedullin (ADM) release from the intestinal epithelial (IE) cells (27). However, the mechanism by which TU-100 enhances ADM release has not been elucidated.

Because some of the major ingredients of TU-100, such as 6-shogaol (6SG) and hydroxy- α -sanshool (HAS), are regarded as TRP vanilloid type 1 (TRPV1)/TRP ankyrin 1 (TRPA1) agonists (21, 31), we hypothesized that TRPV1/TRPA1 stimulation increases IBF via enhancement of ADM release from IE cells, and that the beneficial effect of TU-100 on IBF is mediated by this mechanism. Our results strongly suggest that TRPA1 present in IE cells controls IBF via ADM release and, therefore, the stimulation of intraluminal TRPA1 may be a promising approach for the relief of abdominal symptoms in various intestinal disorders associated with impaired IBF.

MATERIALS AND METHODS

Test sample and reagents. TU-100 is an aqueous extract containing processed ginger, ginseng radix, and Japanese pepper in a ratio of 5:3:2. The dried powdered extract form of TU-100 was obtained from Tsumura and Co. (Tokyo, Japan). The yield of the extract was 12.5%. TU-100 is prepared by mixing TU-100 extract powder and maltose syrup powder (Tsumura and Co.) at a ratio of 1:8. Although the doses of TU-100 in the present study (270–2,700 mg/kg body wt) are higher than the clinical doses used in humans, previous studies in animals have shown that the relevant pharmacological effects occur only in the experimental doses. Furthermore, treatment of rodents with TU-100 at this higher dose range results in blood concentrations of major TU-100 constituents that are similar to those detected in human volunteers treated with TU-100 at clinical dose range (18, 37).

Ginsenoside Rb1, ginsenoside Rg1, ginsenoside Rd, protopanaxadiol, 6SG, 6-gingerol, 10-gingerol, maltose, allyl-isothiocyanate (AITC), and capsaicin (CAP) were purchased from Wako Pure Chemical Industries (Osaka, Japan). Urethane, α -chloralose, cinnamaldehyde

Address for reprint requests and other correspondence: T. Kono, Center for Clinical and Biomedical Research, Sapporo Higashi Tokushukai Hospital, 14-3-1 Higashi, N33, Higashi-ku, Sapporo, Hokkaido 065-0033, Japan (e-mail: kono@asahikawa-med.ac.jp).