

Figure 3 Effects of eliminating one constituent crude drug from Otsujito (OTT) on the growth of *C. difficile*.

Each concentration of six OTT analogues, OTT without Angelicae Radix, Bupleuri Radix, Schtellariae Radix, Glycyrrhizae Radix, Cimicifugae Rhizoma, and Rhei Rhizoma (NAR, NBR, NSR, NGR, NCR, and NRR, respectively), is shown in table 1. Each value represents the means \pm SD (n=4). The statistical significance was determined by Dunnett's test. $**P < 0.01$ versus control, which was normalized to 100%.

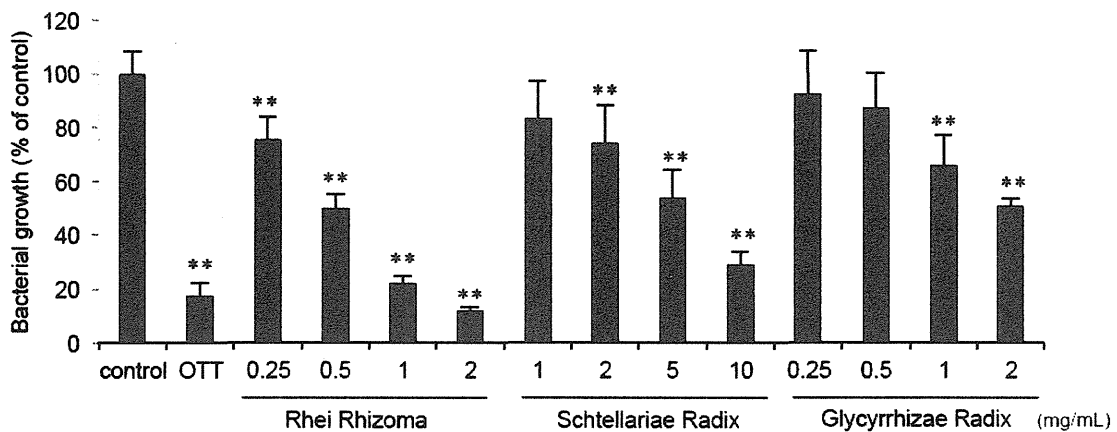


Figure 4 Effects of Rhei Rhizoma, Schtellariae Radix, and Glycyrrhizae Radix on the growth of *C. difficile*.

Each value represents the means \pm SD (n=4). The statistical significance was determined by Dunnett's test. $**P < 0.01$ versus control, which was normalized to 100%.

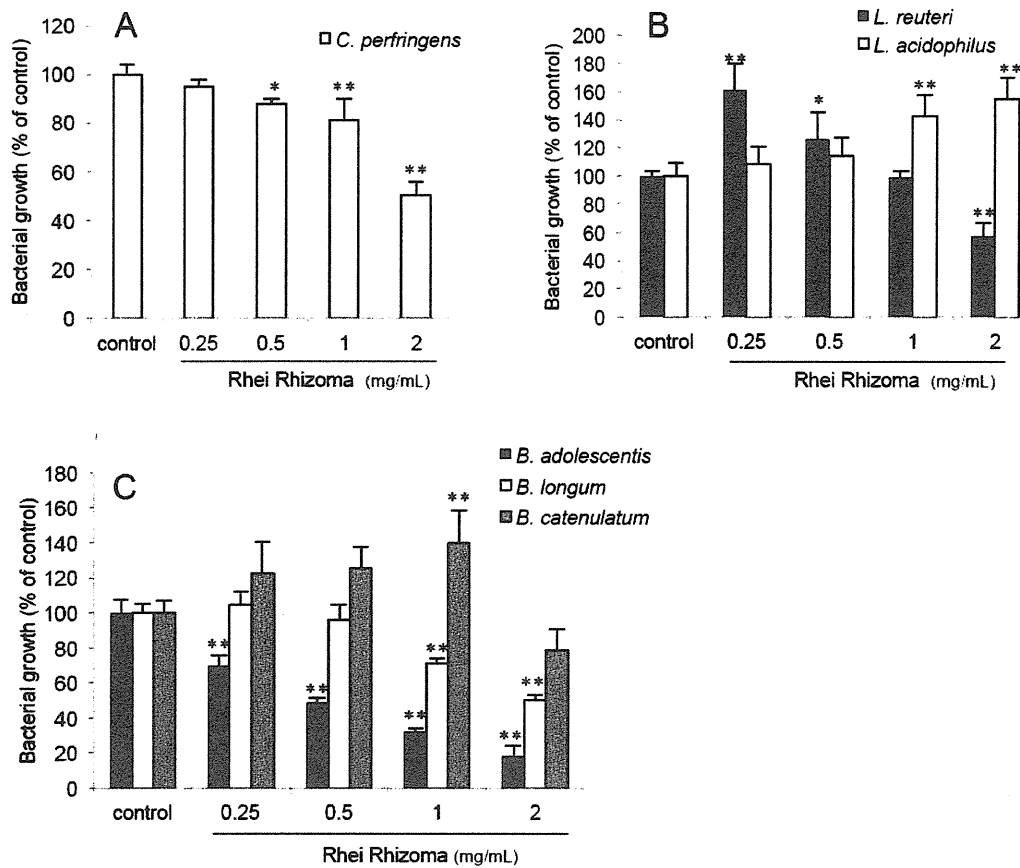


Figure 5 Effects of Rhei Rhizoma on the growth of intestinal bacterium.

Bacterium used in this assay was (A) *Clostridium*, (B) *Lactobacillus*, and (C) *Bifidobacterium*. Each value represents the means \pm SD (n=4). The statistical significance was determined by Dunnett's test. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ versus control, which was normalized to 100%.

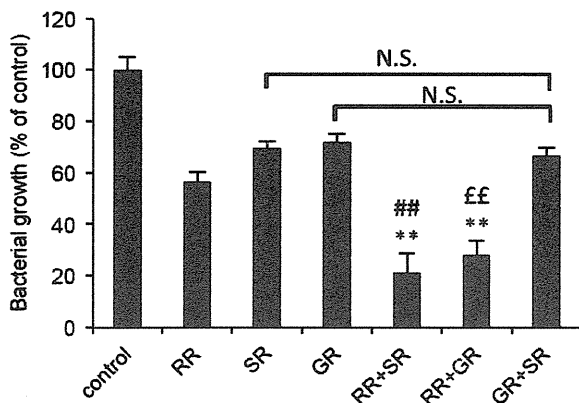


Figure 6 Effects of the combination of Rhei Rhizoma (RR), Schtellariae Radix (SR), and Glycyrrhizae Radix (GR) on the growth of *C. difficile*.

Each value represents the means \pm SD (n=4). The statistical significance was determined by Tukey's test. ** $P < 0.01$, ## $P < 0.01$, and ££ $P < 0.01$ versus RR-, SR-, and GR-treated cells, respectively. N.S., not significant.

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
分担研究報告書

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 生薬部長

半夏に含有される抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現増強活性成分に関する研究

我々は漢方処方 の有効性・安全性に関する研究の一環として腸内環境に対する漢方処方 の影響について検討する中で、六君子湯にマクロファージの抗炎症性サイトカイン Interleukin-10 の発現誘導活性を見出し、その構成生薬のうち半夏に強い活性を確認している。本研究では半夏に含有される活性成分の特性についてさらに検討し、特殊な糖より構成される糖鎖、あるいは、糖以外の高分子化合物であることを明らかにした。

A. 研究目的

平成 20 年 9 月 30 日に薬食審査発第 0930001 号通知として一般用漢方製剤承認基準が発出され、昭和 40 年代末に公表された一般用漢方処方承認内規は約 30 年振りに見直された。これは、平成 14 年に厚労省の主催で開催された一般用医薬品承認審査合理化等検討会の中間報告書「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-」に対応したものであり、国立医薬品食品衛生研究所生薬部が主導した厚労科学研究における研究班報告書「新一般用漢方処方の手引き案（改訂版）」（平成 20 年 3 月）を基盤としたものである。さらに通知発出は、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 号通知と続き、計 294 処方を収載する承認基準へと拡大され、平成 25 年 9 月にはその解説書の「新一般用漢方処方の手引き」が発刊されている。

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、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検討している。既に、附子理中湯及び六君子湯を含むいくつかの処方に抗炎症性サイトカイン Interleukin-10 (IL-10) の発現促進活性を見出し、それぞれの処方の主な活性生薬が乾姜及び半夏であることを明らかにしている。昨年度は、半夏に含まれる IL-10 発現促進活性成分について検討し、高分子の糖鎖と推測するに至ったが、本年度はさらにその活性成分の特性について検討を進めたので報告する。

B. 研究方法

試薬及び器具

半夏はウチダ和漢薬より日本薬局方規格品を購入して用いた。DMEM 培地 (GIBCO DMEM+GlutaMax™-1)、RPMI1640 培地 (GIBCO RPMI+GlutaMax™-1)、Penicillin-Streptomycin 溶液は Invitrogen 製を用いた。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。LPS (Lipopolysaccharides from Escherichia coli

0127:B8)はSIGMA-ALDRICHより購入した。糖鎖標品としてのマルトトリオース (BC-G3)、マルトペンタオース (BC-G5)、マルトヘプタオース (BC-G7) 及び G1~G10 mix (BC-GM) はセンシュエー科学より購入した。D-Glucose はSIGMA-ALDRICHより購入した。

糖加水分解酵素として、 α -Amylase (Aspergillus oryzae, SIGMA-ALDRICH)、Arabinanase (A. niger, Megazyme)、Dextranase (Chaetomium erraticum, SIGMA-ALDRICH)、Pectinase (Aspergillus aculeatus, SIGMA-ALDRICH) を用いた。エタノールは関東化学より購入し、水はMilliQ水を用いた。

サイトカインの定量には、Meso Scale Discovery社の96-Well Mouse Cytokine Assays Tissue Culture Kit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。

固相抽出カラムはWaters社のOasis HLB (30 mg/1cc)を用いた。脱塩カラムはGE Healthcare社のPD MidiTrap G-10を用いた。HPLCによる分離分析には、配位子交換カラムとしてSUGAR KS-802 (6 μ m, 8.0 \times 300 mm, Shodex)、ゲルろ過カラムとしてTSKgel GMPW_{XL} (13 μ m, 7.8 \times 300mm, TOSOH)を用いた。

設備及び機器

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 (東京理化学器械)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。フェノール・硫酸法による糖の定量には、コロナ電気社

の紫外吸光度計SH-1200 Labを用いた。溶媒の除去には、佐久間製作所の遠心エバポレーターEC-57CSを用いた。LC-CAD分析におけるLC部は、LC-20AD (ポンプ)、SPD-M20A (検出器)、DGU-20A₃ (デガッサー)、SIL-20AC (オートサンプラー)及びCTO-20AC (カラムオーブン)から構成される島津製作所のProminenceシステムを用いた。検出器としてフォトダイオードアレイ検出器SPD-M20A (島津製作所)及び荷電化粒子検出器Corona CAD (日本ダイオネクス)を用いた。

半夏のエキス調製

半夏20gをポット (らくらく煎)に取り、生薬総重量の20倍量の水 (400mL)を入れ、半量になるまで煎じた。熱いうちに茶漉しでろ過し、広口の三角フラスコに移して冷ました。冷めた煎出液を50 mLチューブに分注し、遠心 (3000 rpm, 5 min, Kubota 6500)した後、デカントで上清をナスフラスコに移した。これを-45°Cで90分冷やして予備凍結させた後、凍結乾燥機で2日間凍結乾燥させてエキスを調製した。

検体試料溶液の調製

凍結乾燥エキスを5mg/mLの濃度で血清抜き 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に用いた。

培養細胞

マウスマクロファージ様細胞RAW264.7 (ATCC: TIB-71)は、大日本住友製薬より購入した。RAW264.7細胞の継代培養は、DMEM 培地 (10% FBS, 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、セルスクレーパーでシャーレより剥がし、新鮮培地に 1/5~1/20 の希釈倍率で播種した。サイトカイン発現量定量においては、24 穴プレートに 1.7×10^5 cells/1mL/well の濃度で細胞を播種し、24 時間培養した後に用いた。

サイトカイン発現量の定量

24 穴プレートから DMEM 培地を吸引除去し、血清抜き RPMI1640 培地にて希釈した検体試料溶液（最終濃度が 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を 950 μL で投与した。対照区には血清抜き RPMI1640 培地 950 μL を投与した。この状態で 30 分間培養した後、血清抜き RPMI1640 培地に溶かした LPS を 50 $\mu\text{g}/\text{well}$ （最終濃度 100ng/ml）で添加し、さらに 6 時間培養した後、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 Mouse 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。

逆相担体による固相抽出処理

Oasis HLB カラム (30 mg/1cc) に MeOH 1 mL を流してコンディショニングし、水 1 mL を流し平衡化させた。ここに半夏エキスの水溶液を 1 mL ロードし、非吸着画分 (S42-1) を回収した。

エタノール沈殿

半夏煎出エキスの Oasis HLB カラム非吸着画分 (S42-1) 6 mL 分を凍結乾燥させ、水 1 mL に溶解し、そこにエタノールを 4 mL 加え、一晚静置 (4°C) した。遠心 (3000 rpm、20 min) 後、上清画分 (S42-1 EtS) はエバポレーターを用いて濃縮し、沈殿画分 (S42-1 EtP) は凍結乾燥機を用いて乾燥させた後、保存した (-30°C 又は 4°C)。

配位子交換カラムによる分析

半夏煎出エキスの Oasis HLB カラム非吸着画

のエタノール沈殿により得られた画分を配位子交換カラム SUGAR KS-802 に供し、水を移動相として 0.4 mL/min で Isocratic に溶出させた。検出器は PDA-CAD を用い、カラムオーブンは 80°C に設定した。

ゲルろ過カラムによる分離分析

半夏煎出エキスの Oasis HLB カラム非吸着画のエタノール沈殿により得られた沈殿画分 (S42-1 EtP) を凍結乾燥させ、3 mg/mL になるように水に溶解し、メンブレンフィルターでろ過したものをゲルろ過カラム TSKgel GMPW_{XL} に供し、水を移動相として 0.3 mL/min で Isocratic に溶出させた。検出器は PDA-CAD を用い、カラムオーブンは 40°C に設定した。保持時間 10~40 min の間 1 min 間隔でフラクションを分取した。回収したフラクションから 120 μL ずつ取り、活性測定に供した。

糖加水分解酵素による処理

半夏煎出エキスの Oasis HLB カラム非吸着画のエタノール沈殿により得られた沈殿画分 (S42-1 EtP) を 5 mM Sodium Acetate buffer (pH 4.8) に溶解 (4.5 mg/mL) し、溶液 1 mL に対し各加水分解酵素 2 unit ずつ添加した。不活化酵素としては、酵素液を加熱処理 (95°C、30 min) し、遠心 (10,000 rpm、5 min) 後の上清を用いた。37 °C で 24 h 酵素反応を行った後、加熱により酵素反応を停止した (95°C、15 min)。遠心 (10,000 rpm、5 min) 後、上清を脱塩カラム PD MidiTrap G-10 に供して buffer を水に交換し、ゲルろ過カラムによる分析及び活性測定に供した。

フェノール・硫酸法による糖の定量

糖加水分解処理を施した S42-1 EtP 画分のゲルろ過カラムフラクションに対して、フェノール・硫酸法による糖の定量を行った。カラムフラクションを 5 本ずつまとめて定量した。96 well プレートに検体を 50 μL 分注し、濃硫酸を 150 μL 加

えた。すぐに 5 %フェノール溶液を 30 μ L 加え、水浴で温めた (90°C、5 min) 後、室温で 10 min 冷まし、490 nm で吸光度を測定した。グルコースの standard 濃度は 0, 5, 25, 50, 125, 250, 375, 500 μ g/mL を用いた。

倫理面への配慮

本研究で用いるマウス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

エタノール沈殿による分画

マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 における抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現を増強させる半夏の活性成分は、逆相担体 Oasis HLB カラム処理において非吸着画分 (S42-1) に回収されることが既に明らかになっているが、この回収画分をエタノールで処理し、上清 (S42-1 EtS) と沈殿 (S42-1 EtP) に分けたところ、活性は沈殿画分に局在した (図 1)。また、各画分を配位子交換カラムにより分析したところ、上清画分にはエタノール沈殿前の大部分のピークが観察され、一方、沈殿画分には比較的高分子量のピークのみが観察された (図 2)。

ゲルろ過カラムによる分離

半夏煎出エキスの Oasis HLB カラム非吸着画のエタノール沈殿により得られた沈殿画分 (S42-1 EtP) をゲルろ過カラムに供し、分取したフラクションの活性を測定した (図 3 及び 4)。活性は分子量 34.4 万 Da の糖鎖標品よりも早く溶出し、この分子量よりも大きな巨大分子であることが分かった。

糖加水分解酵素による処理

半夏煎出エキスの Oasis HLB カラム非吸着画のエタノール沈殿により得られた沈殿画分 (S42-1 EtP) を、糖加水分解酵素で処理し、活性の消長に

ついて検討した。加水分解酵素は 4 種のカクテル (α -Amylase、Arabinanase、Dextranase、Pectinase) として処理した。加水分解酵素処理前後の S42-1 EtP 画分をゲルろ過カラムにより分析したところ、巨大分子量に相当するピークが小さくなり、その代わり、5900 Da より遥かに小さな分子量に相当するピークが大きくなっていた (図 5)。また、分取したフラクションの糖含量を測定したところ、図 6 に示すように、糖加水分解酵素処理により糖の分布は巨大分子量から低分子量へシフトしており、加水分解は良好に進行していることが分かった。しかし、糖加水分解酵素処理により活性は消失しなかった (図 7)。また、分取したフラクションの活性を測定したところ、酵素処理の有無に関わらず、活性成分は巨大分子量に相当する画分に局在したままであった (図 8)。

D. 考察

半夏に見出したマウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 における抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現増強活性に関して、その活性成分の精製を進め、成分の特性について検討した。

エタノール沈殿における挙動、ゲルろ過カラムにおける溶出位置、また、昨年既に得られている配位子交換カラムにおける溶出位置から、活性成分は極めて大きな分子量であることが分かった。活性の存在する画分は、CAD (荷電化粒子検出器) ではピークを検出できるものの、ほとんど UV 吸収を持たないため、糖鎖であろうとの仮説のもとに検討を進めた。しかし、一般的な糖加水分解酵素 (α -Amylase、Arabinanase、Dextranase、Pectinase) のカクテルで処理したところ、図 8 に示すように糖の加水分解は良好に進行しているにも関わらず、活性は消失せず、さらには巨大分子量のままで維持されていた。このことは、活性成分が特殊な糖より構成されるか、あるいは、糖以外的高分子化合物であることを示している。今後は、タンパク質あるいは核酸等の可能性を視

野に検討を進める必要がある。

E. 結論

一般用漢方処方の有効性及び安全性に関する研究の一環として、マウスマクロファージ様細胞をモデル系として用い、半夏における抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現増強活性成分について特性解析を進めたところ、巨大分子量を持つことが分かった。ただし、単純な糖鎖ではなく、特殊な糖による糖鎖、あるいは、糖以外の高分子化合物であることが分かった。今後、活性本体の特定に向けてさらに検討を進める予定である。

F. 研究発表

1. 学会発表

坂上祐香、湯浅宗光、合田幸広、袴塚高志、新規漢方処方の品質規格に関する基礎的検討(16) 半夏が有する抗炎症性サイトカインの発現増強活性、日本薬学会第 134 年会、平成 26 年 3 月、熊本

2. 誌上発表

該当無し

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

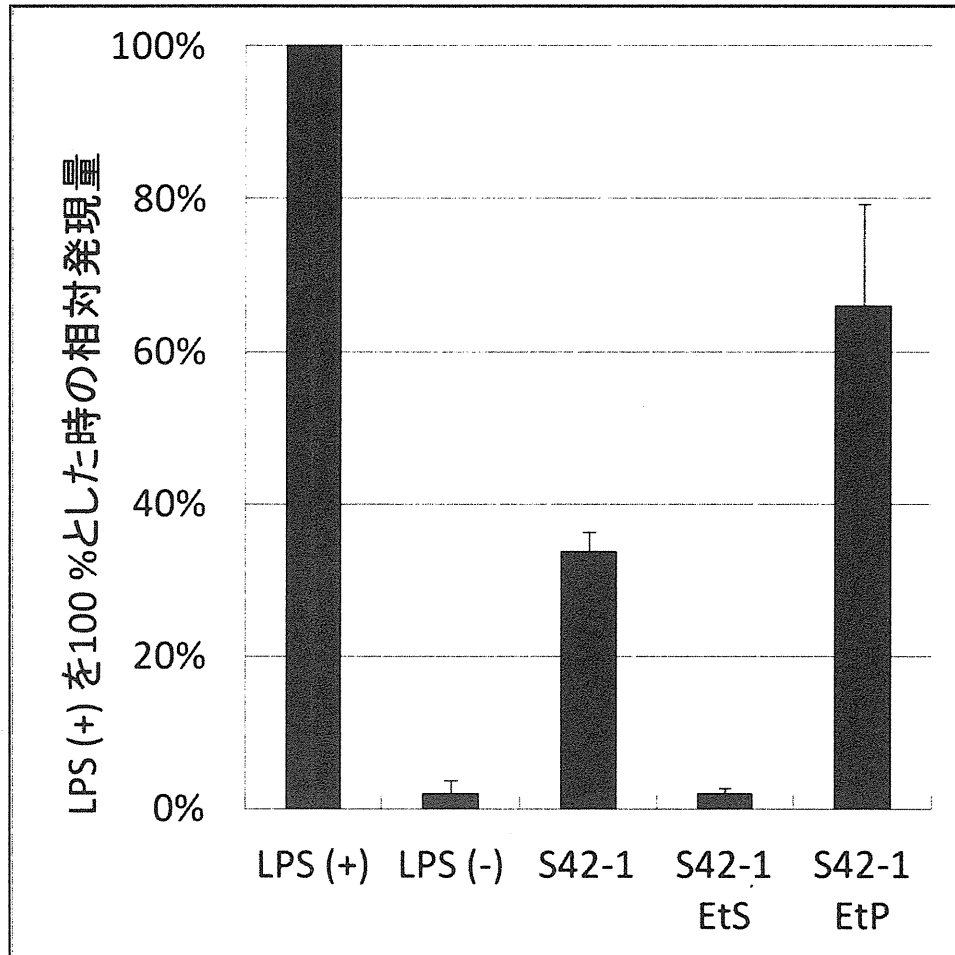


図1 半夏煎出エキスのIL-10発現増強活性成分に対するエタノール沈殿の影響

LPS(+): Lipopolysaccharide 処理、LPS(-): Lipopolysaccharide 処理なし(溶媒のみ)、S42-1: 半夏煎出エキスのOasis HLB カラム非吸着画分、S42-1 EtS: S42-1のエタノール処理上清画分、S42-1 EtP: S42-1のエタノール処理沈殿画分

値は平均±S.D. (n=3)

統計処理はDunnett's testに従った。

** $p > 0.01$ versus LPS (-)

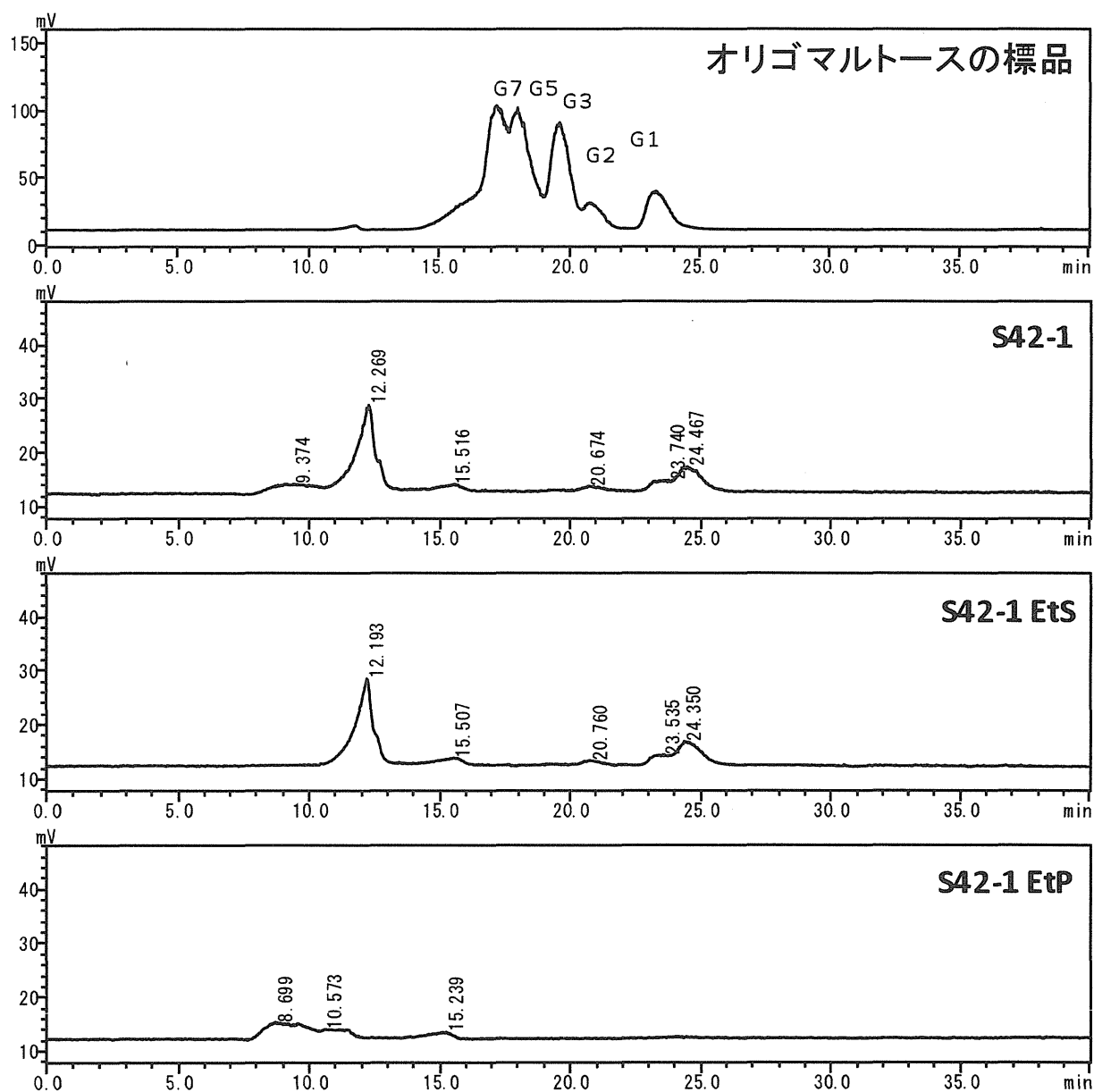


図2 半夏煎出エキスのエタノール沈殿画分における配位子交換カラム分析

S42-1: 半夏煎出エキスの Oasis HLB カラム非吸着画分、S42-1 EtS: S42-1 のエタノール処理上清画分、S42-1 EtP: S42-1 のエタノール処理沈殿画分

検出器: CAD (荷電化粒子検出器)、カラム: SUGAR KS-802 (6 μ m、8.0 \times 300 mm、Shodex)、移動相: H₂O、流速: 0.4 mL/min

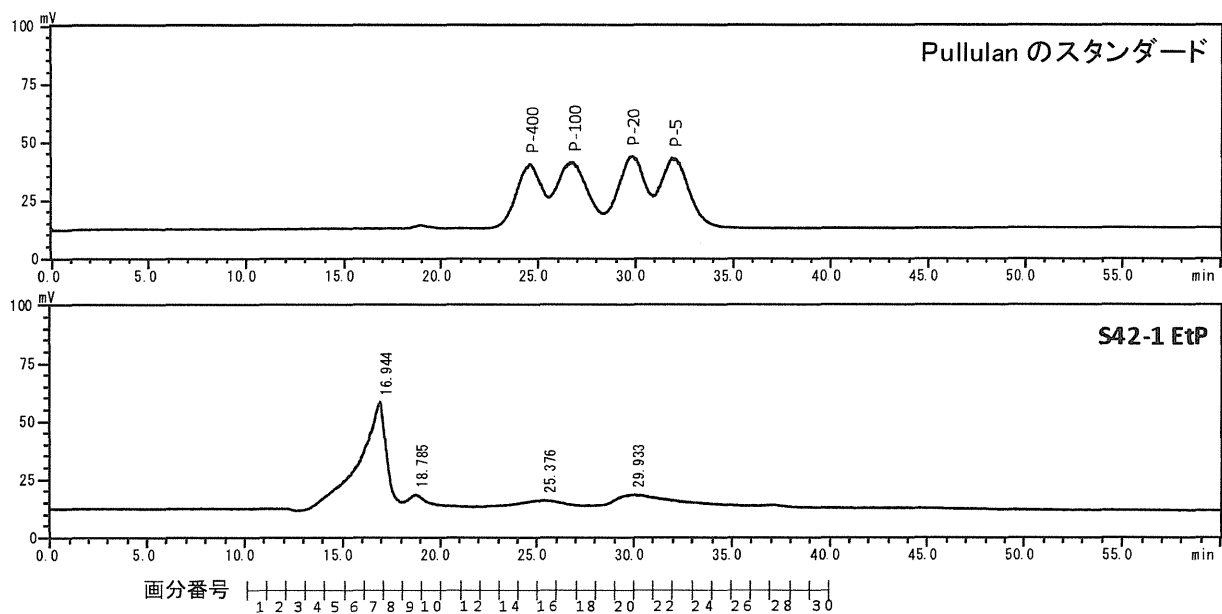


図3 半夏煎出エキスのエタノール沈殿画分におけるゲルろ過カラム分析

S42-1 EtP : S42-1 のエタノール処理沈殿画分

Pullulan スタンダード (P-400: 344,000 Da、P-100: 107,000 Da、P-20: 21,100 Da、P-5: 5,900 Da)

検出器 : CAD (荷電化粒子検出器)、カラム : TSKgel GMPW_{XL} (13 μ m、7.8 x 300mm、TOSOH)、
移動相 : H₂O、流速 : 0.3 mL/min

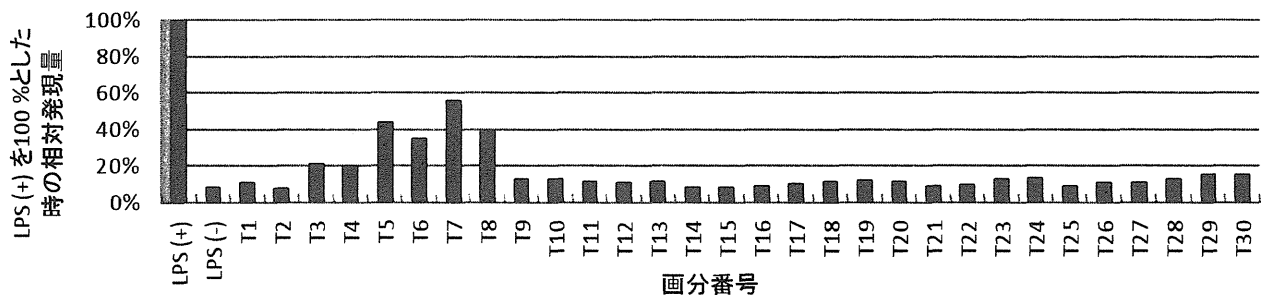


図4 半夏煎出エキスのエタノール沈殿画分におけるゲルろ過カラムフラクションのIL-10 発現増強活性

画分番号は図3中の画分番号と一致

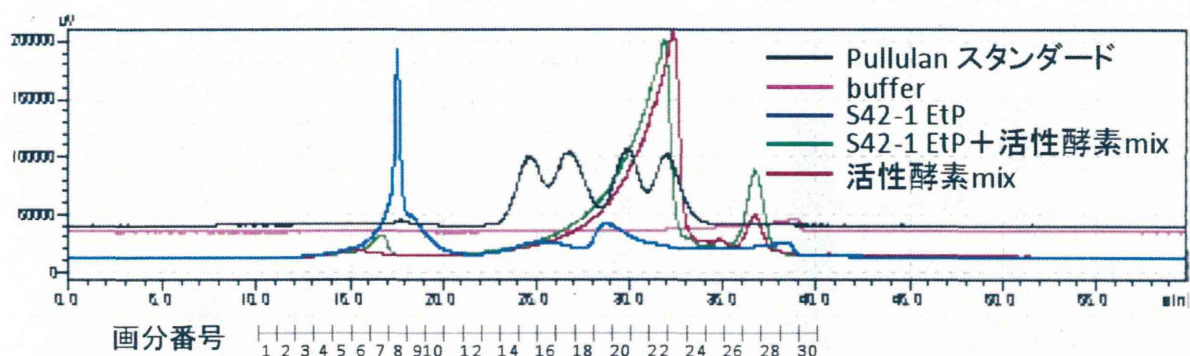


図 5 糖加水分解酵素処理した半夏煎出エキスのエタノール沈殿画分におけるゲルろ過カラム分析

S42-1 EtP： S42-1 のエタノール処理沈殿画分、S42-1 EtP+活性酵素 mix：糖加水分解酵素カクテル処理した S42-1 のエタノール処理沈殿画分、活性酵素 mix：糖加水分解酵素カクテル

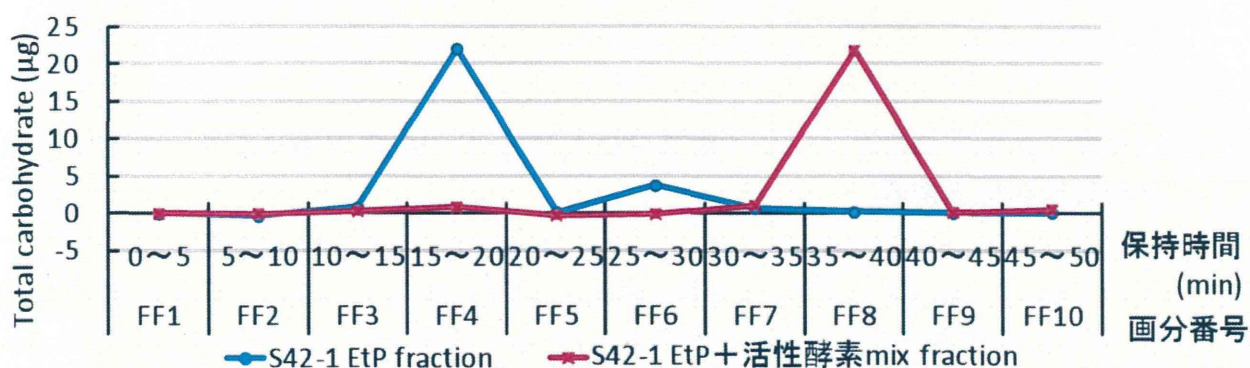


図 6 糖加水分解酵素処理した半夏煎出エキスのエタノール沈殿画分におけるゲルろ過カラムフラクションの糖含量定量

S42-1 EtP： S42-1 のエタノール処理沈殿画分、S42-1 EtP+活性酵素 mix：糖加水分解酵素カクテル処理した S42-1 のエタノール処理沈殿画分

糖定量は 5 本ずつフラクションをまとめて行った。

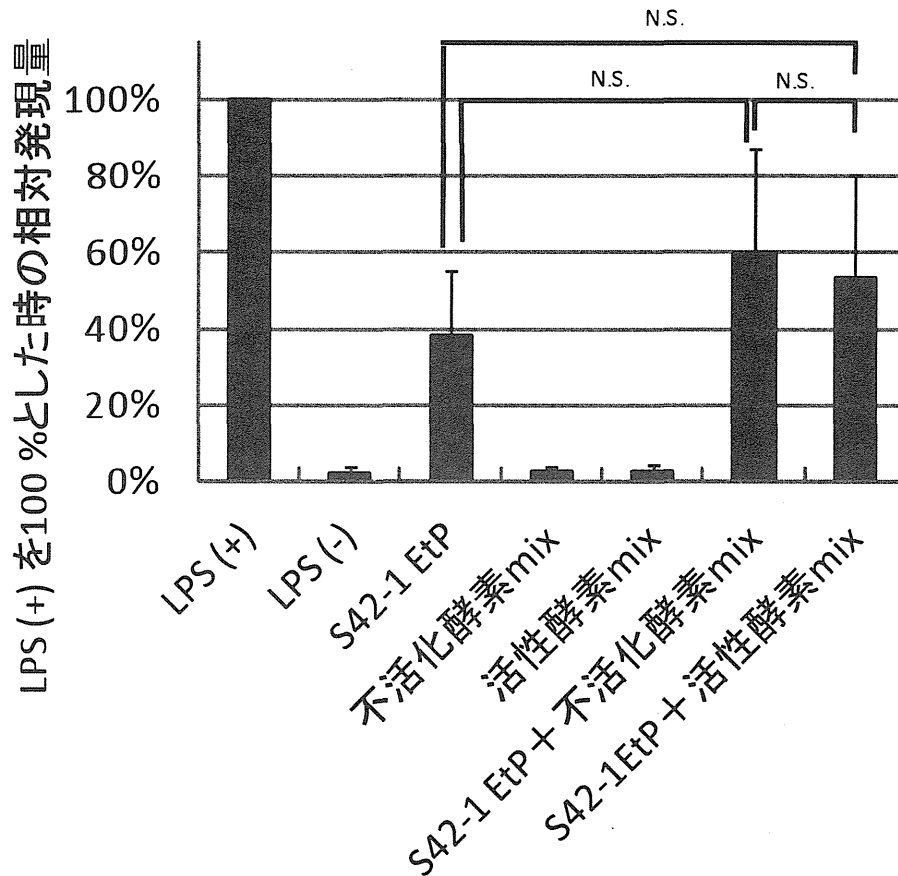


図 7 半夏煎出エキスのエタノール沈殿画分における IL-10 発現増強活性に対する糖加水分解酵素処理の影響

LPS(+): Lipopolysaccharide 処理、LPS(-): Lipopolysaccharide 処理なし (溶媒のみ)、S42-1 EtP: S42-1 のエタノール処理沈殿画分、不活性酵素 mix: 失活させた糖加水分解酵素カクテル、活性酵素 mix: 糖加水分解酵素カクテル、S42-1 EtP+不活性酵素 mix: 失活させた糖加水分解酵素カクテルで処理した S42-1 のエタノール処理沈殿画分、S42-1 EtP+活性酵素 mix: 糖加水分解酵素カクテルで処理した S42-1 のエタノール処理沈殿画分
値は平均±S. D. (n=3)

統計処理は Tukey' s test に従った。

N. S. : not significant

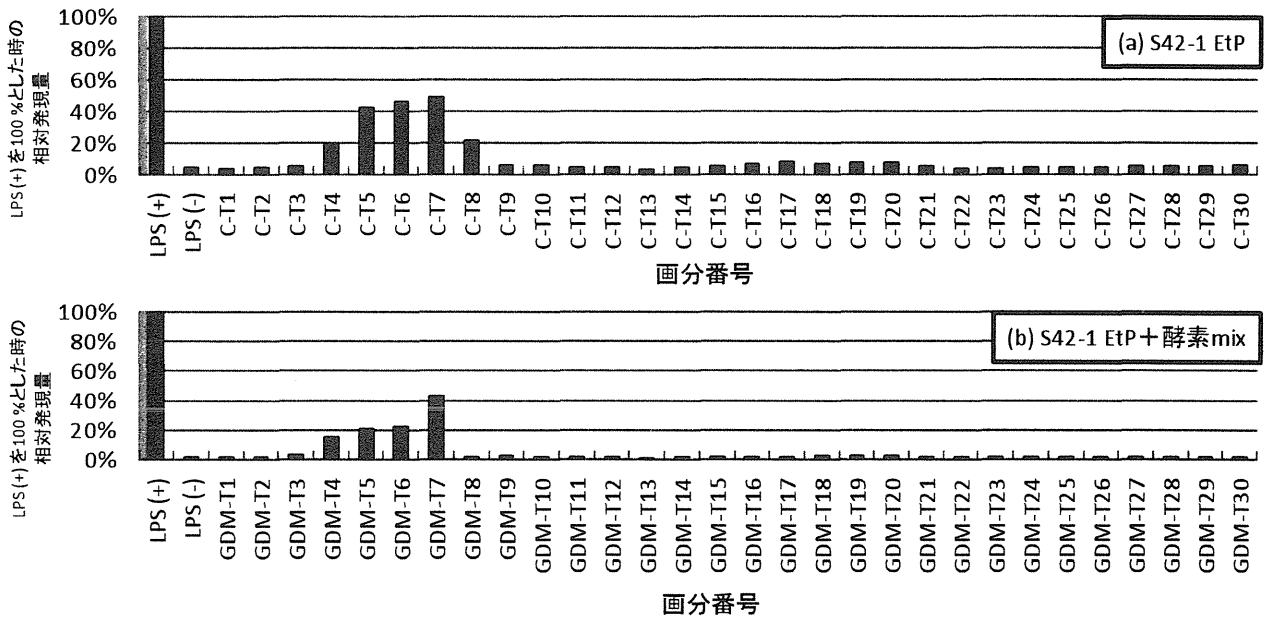


図 8 糖加水分解酵素処理した半夏煎出エキスのエタノール沈殿画分におけるゲルろ過カラムフラクションの IL-10 発現増強活性

(a) S42-1 EtP : S42-1 のエタノール処理沈殿画分、(b) S42-1 EtP + 活性酵素 mix : 糖加水分解酵素カクテル処理した S42-1 のエタノール処理沈殿画分
画分番号は図5中の画分番号と一致

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 生薬部長

新一般用漢方処方の手引きに関する研究

平成 20 年 9 月 30 日に厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知として、「一般用漢方製剤承認基準の制定について」（薬食審査発第 0930001 号）が発出され、昭和 40 年代末に公表された一般用漢方処方 210 処方の承認審査内規は、多くの見直しと共に、内規から通知へと格上げされた。その後、新基準は 3 回の改正が重ねられ、平成 24 年 8 月 30 日発出の通知「一般用漢方製剤承認基準の改正について」（薬食審査発第 0830 第 1 号）に至っている。81 処方の新たな承認基準が制定された大改訂も概ね完了し、平成 25 年 9 月に本承認基準の内容に準拠した解説書として「新一般用漢方処方の手引き」が上梓された。本報告では、「新一般用漢方処方の手引き」作成の経緯について報告する。

研究協力者

合田幸広 国立医薬品食品衛生研究所
中村高敏 医薬品医療機器総合機構
大窪敏樹 日本漢方生薬製剤協会
高橋喜久美 日本漢方生薬製剤協会
松本良三 日本漢方生薬製剤協会
大賀学 日本漢方生薬製剤協会

A 研究目的

従来、一般用漢方製剤の承認審査は、昭和 40 年代末に当時の厚生省より公表された一般用漢方処方 210 処方の承認審査内規（以下、旧基準）を基本とし、昭和 50 年に厚生省薬務局監修の下に出版された「一般用漢方処方の手引き」（以下、旧 210 処方）を参照しつつ行われてきた。旧基準は、日本の成書から一般用医薬品にふさわしいものとして選定された 210 処方について、その成分（構成生薬）及び分量、用法及び用量、効能又は効果等の具体的な承認基準を公表したものであり、旧 210 処方は、旧基準公開の趣旨徹底及び安

全な治療の推進を目的として、旧基準の解説書としてまとめられた書籍である（図 1）。

一方、人口分布高齢化等の社会構造の変化と生活習慣病や痴呆の増加等の疾病構造の変化に伴い、自らの健康に強い関心を持つ国民が増加し、一般用医薬品によるセルフメディケーションの考え方が広がりはじめた。厚生労働省では、このような国民の新たなニーズに対応し得る一般用医薬品の開発促進をはかるため、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、中間報告書として「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」を公表した。本中間報告書には、「漢方薬・生薬の活用」として、処方の選別（疾病構造の変化に対応した処方の追加・削除等）や処方内容の改正（各人の体質による「しぼり」の明確化及び現代に即した症状表現への効能・効果の変更・追加等）を含む一般用漢方処方の見直しに関する提言（以下、「漢方処方に関する提言」）が盛り込まれた。また、これに先立ち、日本漢方生薬製剤協会（以下、「日

漢協)では旧 210 処方の見直し作業が進められ、その検討結果は平成 11 年 4 月に日漢協一般用製剤委員会の報告書「一般用漢方 210 処方 処方小委員会検討レポート」としてまとめられていた。

漢方処方に関する提言を受けて、平成 15 年度から 3 年間、厚生労働科学研究「一般用漢方処方の見直しに資するための有用性評価 (EBM 確保) 手法及び安全性確保等に関する研究」(主任研究者: 合田幸広)において「一般用漢方処方の見直しを図るための調査研究」班が組織され、日本東洋医学会、和漢医薬学会、日本生薬学会、日本薬剤師会等に関係の深い医師、薬剤師による追加・削除処方の選定が行なわれ、さらに、日漢協一般用製剤委員会のメンバーの参画の下、新規追加候補処方を加えた全 298 処方の処方構成、用法・用量、効能・効果、処方解説、参考文献情報等の検討が行われた。その検討結果は、旧 210 処方を改訂するかたちでまとめられ、平成 18 年 3 月に厚生労働科学研究報告書別冊「新一般用漢方処方の手引き案」(以下、「新 210 処方原案」)として報告された。さらに、平成 18 年度より開始された厚生労働科学研究「生薬及び漢方処方の有用性評価手法・安全性確保と国際調和に関する研究」(主任研究者: 合田幸広)における「漢方処方の同等性並びに品質確保等に関する研究」では、新 210 処方原案が一部の見直し・改変及び原稿の完全電子ファイル化と共に改訂され、「新一般用漢方処方の手引き案 (改訂版)」(以下、「新 210 処方案」)としてまとめられた。

行政レベルでの検討に耐え得る資料として整えられた新 210 処方案は、厚生労働科学研究報告書の一部として、厚生労働省医薬食品局審査管理課に提出され、同案をもとに、平成 20 年 2 月 29 日の薬事・食品衛生審議会一般用医薬品部会において「一般用漢方処方に関する承認における基準の改正について」の討議が開始された。本部会では、第一段階として旧基準に記載されている 210 処方を討議の対象とし、医薬品の承認基準上問題となる成分・分量、用法・用量、効能・効果に関

する記載が慎重に検討された。その検討結果は医薬食品局審査管理課長が招集する「一般用医薬品漢方処方に関する検討会」(以下、「漢方処方検討会」)において、一般用医薬品としての適性という観点から評価検討され、さらにパブリックコメントを踏まえて、最終的に一般用部会です承され、同年 9 月 30 日に新基準として発出された。旧基準に記載された 210 処方については、新 210 処方(原)案作成の過程で 5 処方における加減方の独立と、類方の統合 2 件が提案され、本部会においても承認されたため、新基準は収支 213 処方から構成されることとなった。さらに、平成 21 年 6 月 30 日には、新基準の解説を記載した「改訂 一般用漢方処方の手引き」(以下、「改訂 210 処方」)がじほう社より出版された。

旧基準 210 処方の見直しによる新基準制定に引き続き、一般用医薬品部会は新規収載処方についての検討を開始し、まず、新基準 213 処方のいずれかの類方(加減方)に相当する 23 処方について、平成 21 年 8 月 27 日に「一般用漢方処方に係る加減方の追加について」と題する審議を行った。その結果、漢方処方検討会の議論も踏まえて、候補処方 23 品目すべての追補が承認され、平成 22 年 4 月 1 日、厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知として「一般用漢方製剤承認基準の改正について」(薬食審査発第 0401 第 2 号)が発出された。そして、この新基準の改正に合わせて、平成 22 年 8 月 30 日にその追補分の解説書がじほう社より出版されている。

新 210 処方案において承認基準への新規収載が提案された処方は 85 処方であり、上記の 23 処方を除くと 62 処方である。このうち、より市場性が高いと予測され、広く国民の健康増進に貢献し得る処方として選択された 26 処方が、一般用医薬品部会における次の検討対象となった。平成 22 年 8 月 23 日の一般用医薬品部会において「一般用漢方製剤承認基準に追加する 27 処方について」と題して、上述の 26 処方及びその加減方 1 処方について審議され、漢方処方検討会の議論も踏ま

えて、検討処方 27 品目すべての追加収載が承認された。そして、従来の承認基準に対する新規 27 処方の追加と承認基準既収載 236 処方の整備に関して、平成 23 年 4 月 15 日、厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「一般用漢方製剤承認基準の改正について」（薬食審査発第 0415 第 1 号）が発出された。

さらに、残された新規収載候補 36 処方のうち 31 処方について、前もって漢方処方検討会において議論された後、平成 24 年 6 月 7 日の一般用医薬品部会において審議され、その追加収載が承認された。新規収載候補 81 処方のうち 5 処方が選に漏れた理由は、その配合生薬の市場流通性の悪さ及び公的規格の策定し難さであった。そして、合計 294 品目に関する承認基準として、平成 24 年 8 月 30 日、厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「一般用漢方製剤承認基準の改正について」（薬食審査発第 0830 第 1 号）（以下、「現行新基準」）が発出された。全 294 処方の一覧を表 1 に示す。

81 処方の新たな承認基準が制定された大改訂も概ね完了し、新基準の解説書として出版された改訂 210 処方を基礎として、平成 25 年 9 月、現行新基準の内容に準拠した解説書「新一般用漢方処方の手引き」が上梓された。本報告では、新一般用漢方処方の手引き作成の経緯について報告する。

B 研究方法

「新一般用漢方処方の手引き」の出版

厚生労働科学研究「生薬及び漢方処方の有用性評価手法・安全性確保と国際調和に関する研究」

（主任研究者：合田幸広）における「漢方処方の同等性並びに品質確保等に関する研究」の報告書として完成された「新 210 処方案」には、従来の 213 処方に新規収載候補 85 処方を加えた 298 処方に関する記載がある。この内容を基礎として、新基準収載の 213 処方の解説書である「改訂 210 処方」を改訂・補足する形で、平成 25 年 9 月に「新

一般用漢方処方の手引き」をじほう社より上梓した。

倫理面への配慮

本研究はいずれも人及び動物等の倫理面を考慮すべき研究材料を使用しない。

C 研究結果

新基準の発出に伴い、新基準の内容に準拠して「旧 210 処方」の内容が改訂され、「改訂 210 処方」として上梓された。改訂 210 処方の構成は大きく二つに分かれており、一方は新基準の書面に反映された部分（処方名、成分・分量、用法・用量、効能・効果）であり、他方は新基準の書面に反映されない部分（原典・出典、処方解説、参考文献情報）であった。前者は新基準の記載に準拠し、後者は「新 210 処方案」の該当部分を抜き出す形で構成された。また、新 210 処方案は、新規追加候補 85 処方を含む 298 処方から構成されているが、新基準は旧基準に示された 213 処方の改正に関わるものであり、新 210 処方案で提案された新規追加候補処方は扱われていなかったため、改訂 210 処方でも新規追加候補処方については記載されなかった。現行新基準には、新基準 213 処方に新規 80 処方とその類方 1 処方が加わり、合計 294 処方が収載されており、その解説書としての「新一般用漢方処方の手引き」は、「改訂 210 処方」を改訂し、その方針に従って新 210 処方案より新規処方の内容を移行する形でまとめることとなった。以下に、「改訂 210 処方」の改訂の方針及び具体的な改訂点について説明する。

I 各処方に関する記述の改訂

現行新基準に反映された部分（処方名、成分・分量、用法・用量、効能・効果）は忠実に基準の記載通りの内容とした（図 2）。改訂 210 処方では処方名の下にふりがなを括弧付きで記載したが、新一般用漢方処方の手引きでは括弧を付さないこととした。これは、別名を持つ処方に括弧が重

複することを回避するためである。また、今回新たに、体力適応表の該当部分を抜き出し、処方名の隣に配置することとした。また、基準に反映されない部分（原典・出典、処方解説、参考文献情報）は、改訂 210 処方及び新 210 処方案の該当部分を再度見直し、修正点を正した上で記載することとした。以下に主な修正点を示す。

I-a) 参考文献表における文献再調査と修正

各処方記述の参考文献表において、各参考文献を再調査したところ、旧 210 処方より移行した処方の中には、参考文献表に挙げられた文献中に当該処方に関する記述を見出せないケースが散見された。これらは原則的に新一般用漢方処方の手引きに移行せず削除した。また、参考文献の中には、新版が刊行されているものもあり、この場合は新版を参考文献中に追加した。ただし、たとえ絶版になっている場合でも、旧版は参考のために残した。さらに、旧 210 処方では、「なぜ薬承認基準」や「局方」等の行政文書や公定書が参考文献になっているものも散見されたが、これらは削除した。

I-b) 参考文献表の記載整備

参考文献は五十音順で並べ替えた。これに伴い、表注や注釈の番号も振り直しした上で、その番号に従って並べ直した。さらに、表で使用する記号（○、△、—）の定義を明確にして、それに従って記載を整備した。定義は以下の通りである。

- ：当該文献に処方名及び配合生薬の記載はあるが、配合生薬の分量情報が無い場合
- △：当該文献に処方名の記載のみがあり、配合生薬に関する記載が無い場合
- ：当該文献に処方名及び配合生薬の記載はあるが、当該生薬の配合の無い処方構成である場合

II 巻末の参考文献一覧の改訂

上述の I-a) において参考文献の追加及び削除を行ったが、これに合わせて巻末の参考文献一覧も改訂した。また、記載整備として、明治以降の

出版年は年号（明治、大正、昭和、平成）で記載し、明治より前の文献及び外国の文献は西暦で記載し、月及び日は記載しないこととした。

III 索引の整備

新規処方の追加に対応して、全処方の記載から索引項目を改めて抽出し直した。また、関連する索引語を束ねて「主たる索引語」の下に並べる方式は改訂 210 処方の方針を踏襲し、ただし、主たる索引語を大幅に増やした。すなわち、主たる索引語として、従来の「胃炎、痛み、胃腸炎、かぜ、かゆみ、倦怠、痔、湿疹・皮膚炎、出血、ぜんそく、尿関連、冷え、鼻炎、扁桃炎」に加え、新たに「汗関連、顔色関連、渴き・乾き関連、気分、口腔関連、出産関連、せき、はれ、ほてり、目関連」を設定し、さらに、「倦怠」は「倦怠・疲労」に変更した。新一般用漢方処方の手引きにおいて設定した主たる索引語及びその関連索引語を図 3 に示した。

D 考察

「内規」であった一般用漢方製剤の承認基準が、約 30 年振りの見直しによって「通知」として制定されたことは、日本の医療システムにおける漢方製剤の枠組みが行政文書として正式に示されたことを意味する。東洋伝統医学の国際標準化の波が押し寄せる中、他国の伝統医学と調和を取りつつ、日本の文化たる漢方医学の独自性を堅持するためには、国による正式な承認は欠かせず、漢方処方エキスの日本薬局方収載と並び、今般の新基準制定及び改正は、日本漢方の継承とさらなる発展における重要な一里塚になり得ると思われる。

旧基準 210 処方の見直しと新規処方収載により、現行新基準は 294 処方を収載することとなったが、基本処方とその類方に分類整理して処方番号を振り直したところ、基本処方の数は“偶然にも” 210 であった。かつて旧基準が「いわゆる 210 処方」と称されたように、現行新基準も「新 210 処

方」として親しまれることを期待している。

E 結論

平成 20 年 9 月 30 日に厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知として、「一般用漢方製剤承認基準の制定について」（薬食審査発第 0930001 号）が発出され、その後、3 回の改正を経て、平成 24 年 8 月 30 日発出の通知「一般用漢方製剤承認基準の改正について」（薬食審査発第 0830 第 1 号）において、81 処方の新たな承認基準が制定された大改訂も概ね完了し、平成 25 年 9 月に本承認基準の内容に準拠した解説書として「新一般用漢方処方の手引き」が上梓された。社会構造及び疾病構造が変化した現代において、一般用漢方製剤の承認基準が 30 数年ぶりに見直されたことは、国民のセルフメディケーションの選択肢を広げ、適切な健康管理に貢献するものと期待される。

F 研究発表

1 学会発表

糸田幸恵，勢ノ康代，袴塚高志，合田幸広，新規漢方処方の品質規格に関する基礎的検討

（15）腸内細菌 *Clostridium difficile* の増殖を抑制する漢方処方について，日本生薬学会第 60 回年会（2013.9）（北海道石狩郡当別町）

袴塚 高志，漢方・生薬製剤の現状と伝統医学国際標準化の動向について，奈良県医薬品製造販売業等管理者講習会（2014.2）（奈良）。

2 誌上発表

袴塚高志，一般用漢方製剤承認基準の制定及び改正について，日本薬剤師会雑誌，**65**（4），371-375（2013）。

G 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

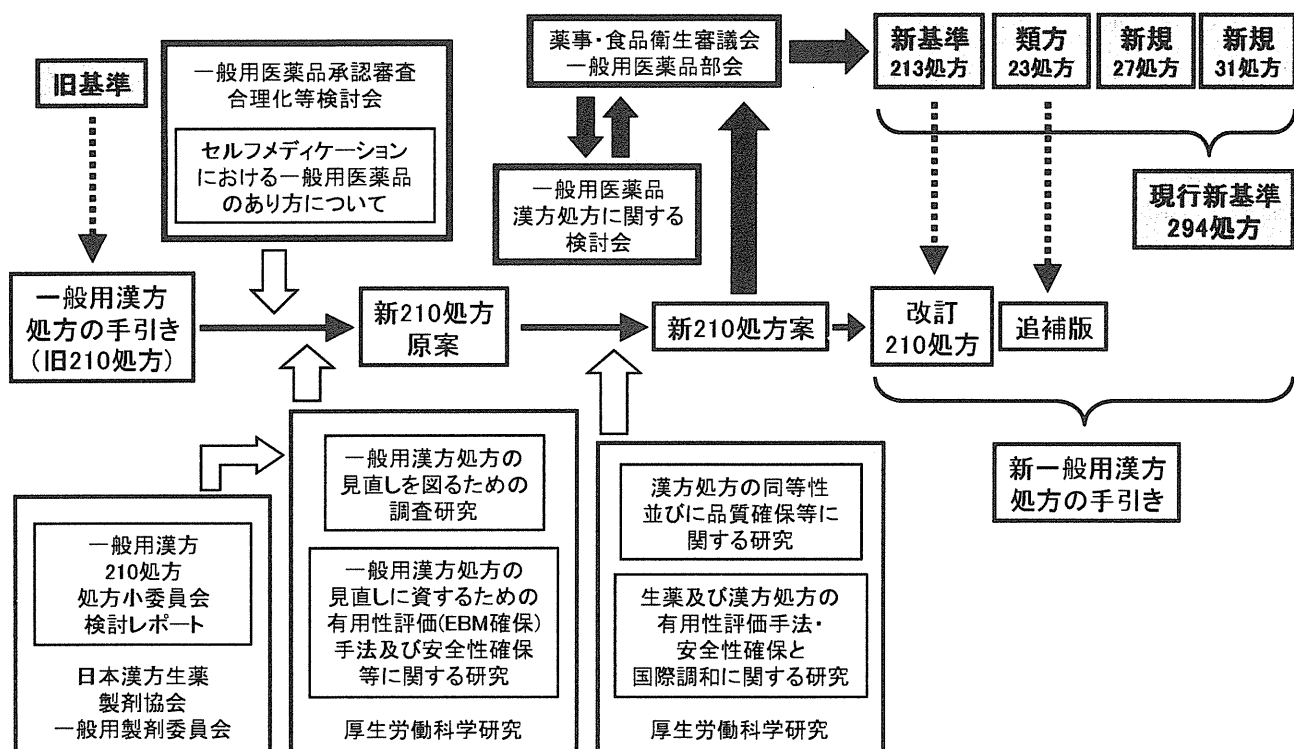


図1 一般用漢方処方の手引きの見直しと新一般用漢方処方の手引きの作成

ふりがなの括弧を削除

体力適応度を個別に表示

処方名、成分・分量、
用法・用量、効能・効果
は忠実に現行新基準の
記載通り

参考文献の内容を
再度確認し修正

参考文献を五十音順に
並べ替え

参考文献の並び替えに
合わせて表注及び
注釈の番号も振り直し

表注、注釈の内容を
再度確認し修正

安中散
あんちゅうさん

成薬 1 0 0 0 発売

成分・分量
桂皮 3～5、延胡索 3～4、牡蠣 3～4、茴香 1.5～2、縮砂 1～2、甘草 1～2、良姜 0.5～1

用法・用量
(1)散：1回 1～2g 1日 2～3回
(2)湯

効能・効果
体力中等度以下で、腹部は力がなくて、胃痛又は腹痛があって、ときに胸やけや、げっぷ、胃もたれ、食欲不振、はきけ、嘔吐などを伴うものの次の諸症：神経性胃炎、慢性胃炎、胃腸虚弱

原典 太平惠民和劑局方
出典 勿誤薬室方函口訣
解説
胃痛を伴う胃疾患の鎮痛剤として用いられるが腹部筋力は弾力に乏しく弛緩し、臍のあたりに動悸を触れ、瘦せ型で甘味を好むタイプの慢性的に経過する胃痛持ちに用いる。
方函類聚に「藜蘆（胃の弛緩症、拡張症）ノ主薬ナリ痛甚者ヲ主トス、反胃（胃逆）ニ用ユルニモ腹痛ヲ目的トスベシ、又婦人血氣（月経痛）刺痛ニハ藜蘆ヨリ反テ効アリ」とある。

参考文献名	生薬名	桂	延胡	牡	茴	縮	甘	良	用法・用量
応用の実際	〔注1〕	3	3	3	2	2	2	1	
基礎と診療		4	3	3	1.5	1	1	0.5	
後世方解説		4	3	3	1.5	1	1(炒)	0.5	(一方：加乾姜1炮)*2
実用療法		5	4	4	2	1.5	1.5	1	
症候別治療		4	3	3	1.5	1	1	0.5	
処方解説	〔注2〕	5	4	4	2	1.5	1.5	0.7	(多く茯苓5を加える)*3
処方分量集		4	3	3	1.5	1	1	0.5	
診療医典	〔注3〕	4	3	3	1.5	1	1	0.5	
診療の実際		4	3	3	1.5	1	1	0.5	
診かた治しかた		4	3	3	1.5	1	1	1	
明解処方		3	2	2	1.5	1	1	1	

*1 元来、散薬であるが、中一散に煎剤で用いる。
*2 末を末となし、毎服 2.0 熟湯調下す。婦人は淡酢湯にて調服す。もし酒を飲まざる者は塩湯を用う。白湯で飲んでよい。
*3 七味を末となし、毎回 1.0～2.0 ずつ温めた酒で服用する。(婦人は薄めた酢でもよい)。通常 1日 2～3 回。酒のきらいなものは塩湯を用いるが、一般には微温湯で服用している。煎用することも多く、そのときは上記分量を 1 日量とする。
〔注1〕 体力が低下している体質虚弱な人が、胃が痛んだり、胃酸を吐いたり、胸やけがするときに用いる。食物消化はわるく、いつまでも胃に停滞し、胸や上腹部が張り、悪心、嘔吐、四肢倦怠などが起こり、体重が減少するものである。
〔注2〕 脾胃（おもに胃のこと）の虚寒と気鬱血滯による胃痛、腹痛というのが主目標で、次のような諸徴候を参考とする。瘦せ型で皮膚筋肉の弛緩傾向、脈は虚、軟、腹も軟弱（ときにやや緊張していることもある）、動悸（とくに胸悸）、胃内停水などを認めることもある。その他、心下痛、心下痞満、腹満（軽度）、下腹部より腰背に及ぶ牽引性疼痛、過酸（または低酸）症、食欲不振、嘔吐（軽度）などである。方函類聚には「婦人、血氣刺痛、小腹（下腹）ヨリ腰ニ連リ、功桂重痛（牽引痛）スルヲ治ス」とあり、勿誤方函口訣には「此方世上ニハ藜蘆（胃拡張）ノ主薬トスレドモ、吐水甚シキ者ニハ効ナシ。痛ミ甚シキ者ヲ主トス。反胃（胃逆）ノ主薬トス。胃痛（痛）ニ用ユルニモ腹痛ヲ目的トスベシ。又婦人血氣刺痛ニハ藜蘆ヨリ反テ効アリ」といっている。

図 2 新一般用漢方処方の手引きの各条のレイアウト及び改訂手引きからの改訂点