

難治性喘息の治療に関する研究

第 1 編

重症難治性喘息における柴朴湯 (TJ-96) の臨床効果 並びにⅣ型アレルギー反応に及ぼす影響

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

江 田 良 輔

(平成 2 年 8 月 31 日受稿)

Key words: 難治性喘息, 柴朴湯, カンジダ抗原, Ⅳ型アレルギー反応

緒 言

近年, 抗アレルギー薬の開発は著しく気管支喘息に対するその薬理作用も多様で病態に応じた治療薬の選択が可能となってきた¹⁾²⁾. しかしながら重症難治性喘息に対しては, 現在の抗アレルギー薬ではなお明確な有効性が得られずステロイドに頼らざるを得ないのが現状である³⁾⁴⁾.

気管支喘息には大別して 2 つの病型がある. その一つは小児喘息に代表される IgE を介するⅠ型アレルギー反応により発症するアトピー型喘息であり, 主としてハウスダスト・ダニ抗原により惹起される即時型気道反応が中心の病態で, 季節性かつ発作性の病像を特徴とする. いま一つは, IgE を介するⅠ型アレルギーのみでは説明し難い非アトピー型に属するものであり, 特に, 40 歳以降に初めて発症し, その臨床的特徴としてはほとんどの症例が慢性持続型の通年性発作を呈し, 重症難治化し易い喘息である. 木村は⁵⁾, このような成人発症の非アトピー型気管支喘息に関して, その病因, 病態の特殊性を強調し, 中高年発症型難治性喘息 (Late onset intractable asthma, LOIA) の独立性を提唱し, 関与するアレルギー反応並びに種々の炎症細胞間の相互作用を解明している. すなわち LOIA では, 遅発・遅延型気道反応を基調とした病態を特徴とし, その抗原としてはハウスダスト・ダニよりもカンジダが中心であり, IgE よりは

IgG 優位のⅢ型反応, さらにその発作の持続性からもリンパ球を介するⅣ型アレルギー反応の関与が重要であるとしている⁴⁾⁶⁾. 従って, 重症難治性喘息治療の根本は, カンジダ等によるⅢ型およびⅣ型アレルギー反応を制御することが必要であろう. 現在ステロイドがその目的にかなう薬剤として使用されているが, かかる反応に対する強い抑制効果の反面, 免疫抑制など多くの重篤な副作用が問題となっており, 今後その難問を解決する薬剤の開発が待たれる⁷⁾.

最近漢方薬の柴朴湯 (TJ-96) が, 重症難治性喘息に対してステロイドの減量や離脱効果を含め優れた臨床効果を示し, しかもステロイドの如き重篤な副作用のない薬剤として報告されている⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾. そこで今回, 成人の重症難治性喘息の発症病態に基づいた治療体系確立を目的として, 柴朴湯 (TJ-96) の臨床効果並びにその作用機作としてのカンジダに対するⅣ型アレルギー反応の抑制効果を検討した.

対 象 と 方 法

対象には岡山大学第 2 内科外来通院中の成人の重症難治性喘息患者 10 例を選んだ. 非アトピー型¹²⁾を中心とする患者背景は table 1 に示す如くであるが, アトピー型でも, ダニよりもカンジダ抗原によるリンパ球幼若化反応および Interleukin 2 (IL-2) 産生能亢進がみられ¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾, カンジダによるⅣ型アレルギー反応の関与が強

Table 1 Characteristics of patients with intractable asthma

No.	Age	Sex	IgE (RIST) IU/ml	IgE(RAST)		Lymphocyte blastogenesis(S. I.)		IL-2 production (S. I.)	
				Mite	Candida	Mite	Candida	Mite	Candida
1	54	M	1019.8	0	0	1.19	5.55	1.14	3.47
2	60	F	93.8	0	0	1.37	4.60	1.23	3.61
3	62	M	46.3	0	0	1.62	3.57	1.09	2.50
4	53	F	78.6	0	0	1.12	7.59	1.54	4.40
5	58	M	285.0	0	0	1.27	4.81	1.37	2.72
6	46	F	125.5	0	0	1.30	4.67	1.10	3.20
7	26	M	383.5	0	0	1.80	3.29	1.80	3.81
8	43	M	381.4	2	0	2.03	2.72	1.91	3.63
9	24	M	8202.0	4	2	2.88	2.93	2.06	2.12
10	46	M	897.6	0	0	1.73	3.00	1.45	2.74

く示唆される LOIA により近い病態を有する症例を検討した。重症難治性喘息の定義は、通常の治療では日常生活が普通に行えず、少なくとも1年あるいはそれ以上ステロイドの離脱が困難でプレドニゾン換算で平均5 mg/day 以上の持続投与が必要な症例とした。

方法は、柴朴湯エキスイ剤(TJ-96)を1日7.5 g、分3にて6ヵ月間以上投与し、その臨床効果の評価として、投与1ヵ月前から終了時までの発作点数及びステロイド使用量の推移を観察した。同時に以下の如き方法で、本剤投与前、投与後1ヵ月、3ヵ月および6ヵ月における患者末梢血単核球のカンジダ抗原並びに PHA に対するリンパ球幼若化反応、Interleukin 2 (IL-2) 及び好中球遊走活性 (Neutrophil chemotactic activity, NCA) 産生能を検討した。また、投与前後での末梢血リンパ球サブセットの推移および PHA 皮内反応の変化も観察した。

以上の検討に加え、患者末梢血単核球に柴朴湯溶液を試験管内で添加し、カンジダ抗原刺激による単核球の IL-2 および NCA 産生能に及ぼす影響とカリンバ球表面 Interleukin 2 receptor (IL-2R) 発現およびサブセットに与える影響を検討した。なお、添加に用いる柴朴湯溶液は、柴朴湯 (TJ-96) を RPMI1640 にて加熱溶解 (60℃, 1時間) 後遠沈して得た上清をミリ

ポアフィルター (MillexHA 0.45μm) で濾過することにより作成した。また、柴朴湯添加による単核球の viability は、trypan blue dye exclusion test および培養上清中の lactate dehydrogenase (LDH) 値の測定の結果、対照に比し有意差はなく、柴朴湯には直接的な cytotoxicity はないことを確認した。

添加薬剤の効果は、[(薬剤無添加時の値-薬剤添加時の値)÷薬剤無添加時の値]×100=% 抑制率で表し評価した。

1) 末梢血単核球の分離並びに IL-2 および NCA 測定のための培養上清の作成

ヘパリン 1 ml 加患者末梢血 10 ml を Histopaque1077 (Sigma) による比重遠沈法にて単核球層を分離採取後、RPMI1640 (GIBCO) にて2回洗浄し、1% fetal calf serum (FCS) 加 RPMI1640 で単核球数 1×10^6 /ml に調整浮遊させた。得られた単核球浮遊液を 1 ml ずつ 24well の tissue culture cluster (Coster) に分注し、カンジダ抗原添加群 [カンジダ凍乾末 (鳥居薬品) を RPMI1640 にて溶解し、最終濃度が至適濃度¹⁴⁾ 150 μg/ml になるように添加]、PHA 添加群 [Phytohemagglutinin-P (DIFCO) を最終濃度 10 μg/ml になるように添加] 及び抗原無添加群 (RPMI1640 のみを添加) を作成し CO₂ incubator にて 37℃, 48 時間培養した。この培養上清を採取して上清中の IL-2 及び NCA を測定した。

なお、NCA の測定は検体を56℃、30分間熱処理（非働化）後行った。また、柴朴湯添加実験においては、カンジダ抗原添加と同時に各種濃度の柴朴湯溶液を加え、同様の培養で得られた反応上清を検体として用いた。

2) 培養上清中の IL-2 の測定

a) CTLL (cytotoxic T cell line) を用いた bioassay 法による IL-2 活性の測定¹⁶⁾

IL-2 dependent cell line である CTLL は、recombinant IL-2 (TGP-3, 武田薬品) を含む 10% FCS 加 RPMI1640 にて継代培養し、IL-2 assay に際しては液換え後48時間後のものを用いた。検体（培養上清）を96well tissue culture cluster (Costar) に7%FCS 加 RPMI1640により triplicate にて0.1ml/wellの希釈倍列(2¹ - 2⁸倍)を作成し、それら各 well に前述の CTLL (洗浄後7% FCS 加 RPMI1640で1×10⁵/mlに調整浮遊)を0.1mlずつ添加後、CO₂ incubator にて37℃、24時間培養した。次に、³H-thymidine を各 well に0.2μCi パルス（添加）し、CO₂ incubator にて37℃、18時間培養後ハーベスト（細胞回収）し、液体シンチレーションカウンターにて各 well の ³H-thymidine の取り込み値 (dpm)を測定した。IL-2 産生能は、抗原添加培養上清の各希釈倍列における平均 dpm(triplicate)のうちの最高値と抗原非添加培養上清のそれとの比を求めて、S. I. (stimulation index) にて表した。

b) ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法による IL-2 の測定¹⁷⁾

添加実験での IL-2 産生能の測定においては、前述の a) 法では、CTLL に対する添加薬剤の直接作用が支障となり培養上清中 IL-2 の正確な測定が困難なため、Inter Test 2 ELISA (Genzyme corporation, Boston, USA) により行った。すなわち、96 well の immunoplate に抗 IL-2-マウスモノクローナル抗体をコーティングし洗浄後、検体および recombinant IL-2 標準品を duplicate で添加し6時間 incubate した。洗浄後、抗 IL-2-ウサギ抗体を添加し1時間 incubate 後洗浄し、さらに ALP-ヤギ抗ウサギ IgE を添加して1時間 incubate した。洗浄後 para-nitrophenyl phosphate (p-NPP)

含有 MgCl₂ を添加し反応させた後、ELISA reader (BIO-RAD, 405nm) にて定量し、検体中の IL-2 を Units/mlで表した。

3) 培養上清中の NCA の測定¹⁸⁾¹⁹⁾

Multiwell micro chemotaxis chamber (Neuroprobe 社)を用い Modified Boyden's method にて測定した。すなわち、下室に検体の培養上清と対照として1% FCS 加 RPMI1640 を duplicate にて25μl ずつ注入し、フィルターとしてヌクレポアフィルター (pore size 5 μm) を覆った。上室にはデキストラン法で得た健常人好中球浮遊液（好中球比率95%以上、細胞数2×10⁶/mlを Hanks' balanced salt solution に浮遊）を200μl ずつ分注後 CO₂ incubator にて37℃、30分間静置した。フィルターを取り出し Gimsa 染色を行い、光学顕微鏡400倍にて鏡検し、下室側に遊走した好中球数の10視野の合計を NCA とした。

4) リンパ球幼若化反応

末梢血より分離した単核球を10% FCS 加 RPMI1640に1×10⁶/ml浮遊させ、96 well tissue culture cluster に100μl ずつ triplicate にて分注した。それらの各 well にカンジダ抗原液（カンジダ凍乾末10mg/mlの RPMI1640溶液）の1, 5, 25, 125倍希釈液（RPMI1640で作成）及び PHA (100μg/ml), 対照として RPMI1640を各々50μl ずつ添加し、37℃にて CO₂ incubator で培養した。カンジダ抗原を添加したプレートは6日後、PHA 添加のそれは3日後にそれぞれ各 well に ³H-thymidine 0.2μCi をパルスし更に7時間培養後ハーベストし、液体シンチレーションカウンターにて各 well の ³H-thymidine の取り込み値 (dpm) を測定した。抗原添加群の各濃度における平均 dpm (triplicate) のうちの最高値と抗原非添加群の平均 dpm 値の比により S. I. を求め、リンパ球幼若化反応を表した。

5) 培養リンパ球表面 IL-2R (CD25)²⁰⁾ 発現量およびサブセット (CD4, CD8) の解析

フローサイトメトリー²¹⁾により2種のモノクローナル抗体を用いた2 color analysis を行った。患者末梢血より分離した単核球を1% FCS 加 RPMI1640で1×10⁶/mlに調整浮遊させ、得られた単核球浮遊液を2mlずつ24 well の tissue

culture cluster (Coster) に分注し、カンジダ抗原 (最終濃度 $150\mu\text{g}/\text{ml}$) 添加群、柴朴湯溶液 ($100\mu\text{g}/\text{ml}$) およびカンジダ抗原を添加した群並びに抗原無添加群 (対照) の 3 群を作成し、 CO_2 incubator にて 37°C 、48 時間培養した。かかる単核球を回収し PBS にて一度洗浄した後遠沈し、 1.5ml PBS に再浮遊させ $100\mu\text{l}$ ずつ微量遠沈管に分注後各種モノクローナル抗体を加えて 4°C 、30 分間反応させた。IL-2 R の解析には FITC 標識抗 IL-2 receptor (CD25) および PE 標識 Leu-3a (CD 4) を、サブセット解析には FITC 標識 Leu-3a (CD 4) および PE 標識 Leu-2a (CD 8) を用いた。モノクローナル抗体と反応させた単核球を PBS にて洗浄後再浮遊させ、FACSscan (Becton Dickinson 社製) に注入し 2 color analysis 法にて解析した。IL-2 R 発現量は fluorescent intensity の平均値で表した。

6) 推計学的検定

有意差検定は student's test を用い P value は $P < 0.05$ を有意と考えた。

結 果

1. 柴朴湯の重症難治性喘息に対する臨床効果

(1) 発作点数とステロイド使用量の推移

6 ヶ月以上の柴朴湯 (TJ-96) 服用による臨床

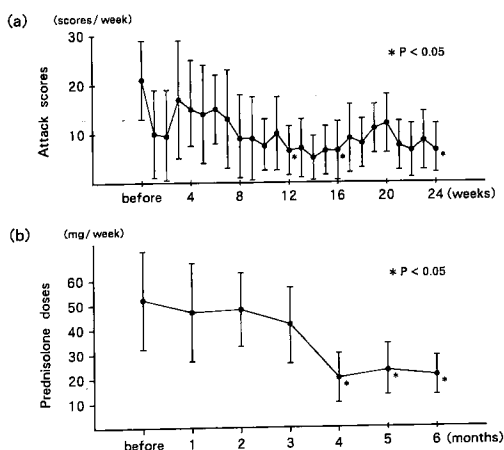


Fig. 1 Changes of attack scores and prednisolone doses by oral administration of Saiboku-to (TJ-96) in intractable asthmatics.

効果の評価をまず発作点数でみると、速効性はないが 1 ~ 2 週後に減少が認められ、再度増加した後 3 ヶ月から 6 ヶ月にかけて有意に減少した ($P < 0.05$)。一方ステロイドの使用量で評価すると、投与前にはプレドニゾロン服用量が $51.4 \pm 24.2\text{mg}/\text{週}$ であったが、4 ヶ月後には $19.9 \pm 10.5\text{mg}/\text{週}$ と有意に減量が可能であった ($P < 0.05$)。また個々の症例では、10 症例中 6 例に 3 ~ 4 ヶ月目頃より減量効果が認められ、50% 以上の減量は 3 例、50% 未満の減量は 3 例であったが、離脱し得たものはなかった (Fig. 1)。

(2) リンパ球サブセットに及ぼす影響

柴朴湯投与前、投与後 1 ヶ月及び 6 ヶ月の末梢血リンパ球のサブセットを解析したところ、%CD 4 陽性細胞にはほとんど変動がなく、CD 4 / CD 8 比も各々 1.8 ± 0.6 、 1.5 ± 0.5 、 1.4 ± 0.6 と若干の低下傾向を認めたが、有意差はなかった (Fig. 2)。

(3) PHA 皮内反応に及ぼす影響

本剤投与前と投与後 3 ~ 6 ヶ月目に PHA の皮内反応を施行しその長短径の平均にて両者を比較したところ、ほとんど差は認められなかった (Fig. 3)。

(4) リンパ球幼若化反応に及ぼす影響

カンジダ刺激によるリンパ球幼若化反応は投与前 4.27 ± 1.51 と亢進していたが、投与 3 ヶ月後 2.07 ± 0.86 、6 ヶ月後 1.65 ± 0.47 と有意に抑制された ($p < 0.05$, $p < 0.01$)。一方非特異的刺激である PHA による幼若化反応の変化は認め

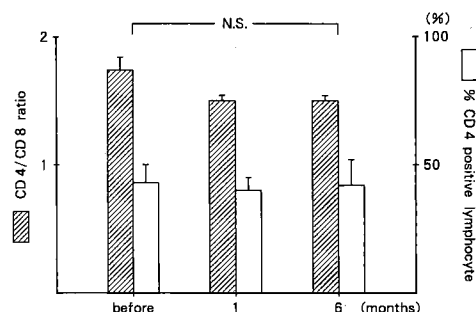


Fig. 2 Effect of oral administration of Saiboku-to (TJ-96) on peripheral blood lymphocyte subsets.

られなかった (Fig. 4).

(5) 末梢血単核球の IL-2 及び NCA 産生能に及ぼす影響

柴朴湯投与前後での患者末梢血の IL-2 産生能は, PHA 刺激では変動が認められなかったが, カンジダ刺激では投与前 3.22 ± 0.69 と亢進していた産生能が, 投与 3 ヶ月後 2.13 ± 0.64 , 6 ヶ月後 1.90 ± 0.60 と有意に抑制された ($P < 0.01$, $P < 0.01$) (Fig. 5). さらに, カンジダによる NCA 産生能も投与前 598.4 ± 123.1 と亢進していたが, 投与 1 ヶ月後 329.5 ± 76.8 , 3 ヶ月後 384.7 ± 167.2 , 6 ヶ月後 286.1 ± 166.7 と有意な抑制効果が認められた ($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$). 一方 PHA では有意な変動はなかった. (Fig. 6).

2. 柴朴湯添加による末梢血単核球機能に及ぼす影響

(1) カンジダ刺激による末梢血単核球の IL-2 および NCA 産生に及ぼす作用

0.1, 0.5, 1 及び 2 mg/ml の濃度の柴朴湯エキスを添加した際のカンジダ刺激による IL-2 産生能の抑制率には, 各々 $9.6 \pm 6.4\%$, 72.1 ± 18.5

%, $87.7 \pm 2.1\%$, $93.1 \pm 4.6\%$ であり濃度依存性の抑制効果がみられた. また NCA 産生能に

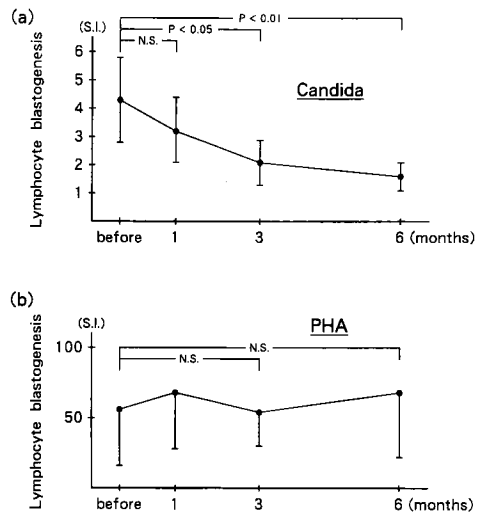


Fig. 4 Effect of oral administration of Saiboku-to (TJ-96) on lymphocyte blastogenic response to Candida antigen (a) and PHA (b) in intractable asthmatics.

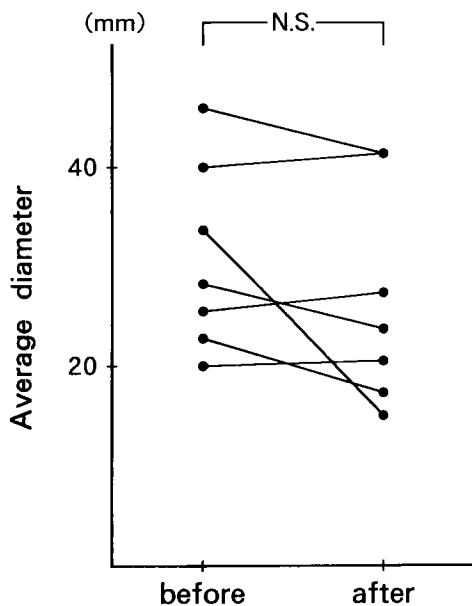


Fig. 3 Effect of oral administration of Saiboku-to on PHA skin reaction.

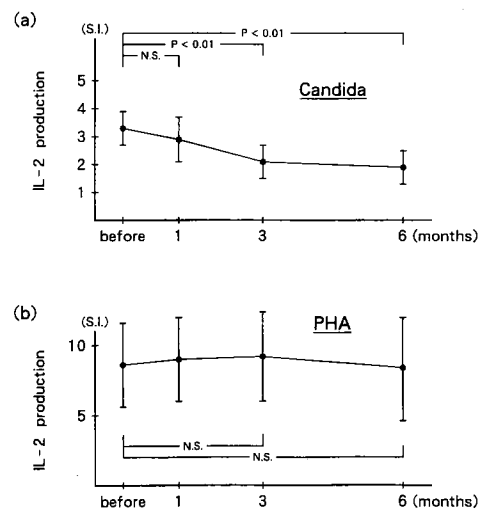


Fig. 5 Effect of oral administration of Saiboku-to (TJ-96) on IL-2 production of peripheral blood lymphocytes stimulated by Candida antigen (a) and PHA (b) in intractable asthmatics.

においてもその抑制率は各々 $8.2 \pm 8.7\%$, $37.1 \pm 13.0\%$, $59.6 \pm 11.4\%$, $81.8 \pm 5.9\%$ と濃度依存性に上昇し, 明かな柴朴湯の抑制効果が認められた (Fig. 7).

(2) 末梢血リンパ球表面 IL-2 R 発現に及ぼす作用

抗原無添加 (対照) にて48時間培養したリンパ球 IL-2 R の発現量 (Fluorescent intensity mean) が, 29.3 ± 6.8 であったのに比し, カンジダ抗原添加培養したリンパ球には 62.9 ± 19.8 と有意な IL-2 R の発現量の増加が認められた ($P < 0.01$). さらに, 柴朴湯溶液 $100 \mu\text{g/ml}$ と共にカンジダ抗原添加培養すると 48.9 ± 26.4 であり, カンジダにより誘導される IL-2 R の過剰発現が柴朴湯により有意に抑制されることが判明した ($P < 0.05$) (Fig. 8).

(3) 末梢血リンパ球サブセットに及ぼす作用

末梢血単核球を抗原無添加群 (対照), カンジダ抗原刺激群および柴朴湯溶液 ($100 \mu\text{g/ml}$) と共にカンジダ抗原を添加した群の3群に分け48時間培養後, 各群のリンパ球サブセットを検討したところ, CD 4 陽性細胞は各々 $42.7 \pm 12.0\%$,

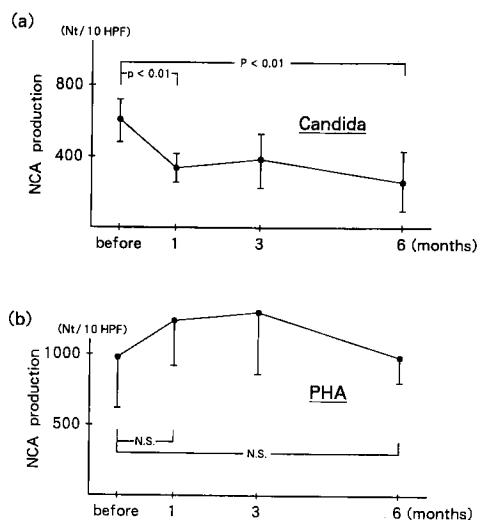


Fig. 6 Effect of oral administration of Saiboku-to (TJ-96) on the production of peripheral blood mononuclear cells derived neutrophil chemotactic activity (NCA) stimulated by Candida antigen (a) and PHA (b) in intractable asthmatics.

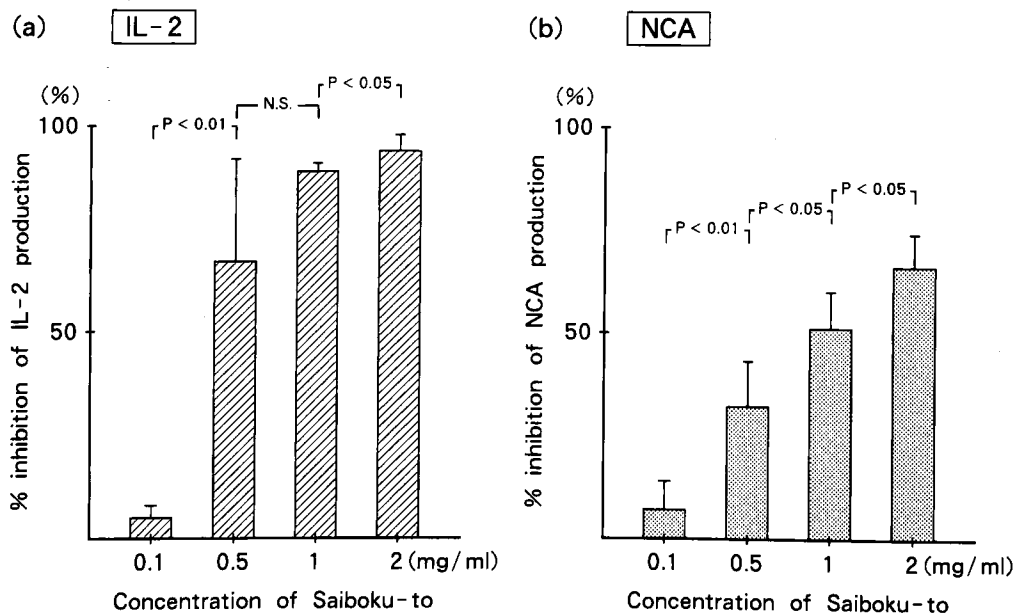


Fig. 7 Inhibitory effect of Saiboku-to on IL-2 (a) and neutrophil chemotactic activity (NCA) (b) production of peripheral blood mononuclear cells from intractable asthmatics stimulated by Candida antigen. (n=5)

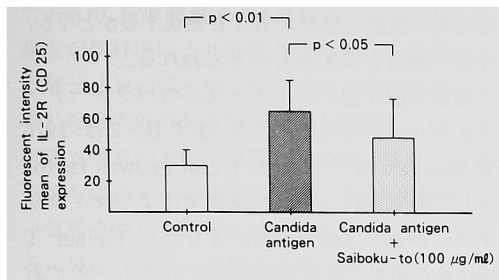


Fig. 8 Inhibitory effect of Saiboku-to on IL-2 receptor (CD25) expression of peripheral blood lymphocytes from intractable asthmatics stimulated by Candida antigen. (n=6)

43.6±10.2%, 45.6±11.0%とほとんど変動を認めず CD 4/CD 8 比も、各々1.2±0.2, 1.2±0.1, 1.4±0.1であり有意な変動は示さなかった (Fig. 9). また%CD 4・CD25陽性細胞にも有意な変動はなかった。

考 察

アトピー型小児喘息の如き I 型アレルギー反応よりもむしろ III 型および IV 型アレルギー反応が病態の中心を成し、しかもステロイド剤以外に的確な効果を認め難い重症難治性喘息の治療対策のひとつとして柴朴湯 (TJ-96) の投与を試み、その臨床効果と薬理作用の基礎的検討を行った。その結果、明かな臨床効果とステロイドの減量効果と共に投与前に亢進していたカンジダに対する末梢血単核球の IL-2 および NCA 産生能の有意な抑制がみられたが、PHA によるそれらの産生にはほとんど影響は認められなかった。さらに添加実験においても柴朴湯は濃度依存性にカンジダによる IL-2 および NCA 産生能に対する抑制効果を示し、さらにカンジダにより誘導される IL-2 R の過剰発現をも抑制した。以上より本剤は、感作抗原による IV 型アレルギー反応の抑制効果を介して重症難治性喘息症例に臨床効果を発揮することが示唆された。

今回検討した柴朴湯²²⁾は昭和に入り本邦にて小柴胡湯と半夏厚朴湯とを組み合わせで作った合方であり、その構成生薬は柴胡、半夏、茯苓、黄芩、厚朴、大棗、人參、甘草、蘇葉及び生姜

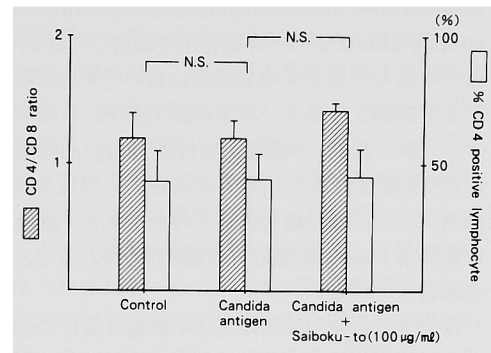


Fig. 9 Effect of Saiboku-to on the subsets of peripheral lymphocytes from intractable asthmatics cultured for 48 hours with Candida antigen. (n=5)

の10種類を数える。元来は体力中等度、胸脇苦満（季肋部の圧痛抵抗）を有し精神不安のある喘息患者に体質改善を目的として用いられ、漢方医学的な「証」としては極端な寒虚、熱実を除きその適用は広い。近年、柴朴湯エキス顆粒製剤 (TJ-96) を厳密な証にとらわれず成人の気管支喘息に投与する試みがなされ、西洋医学的理論に基づくその有用性の評価が多施設 open trial にてなされている⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾。その報告によると、ステロイド依存性難治性喘息において、60~70%の有効率があり、さらに注目すべきは約60%の症例でステロイドの減量効果をも認めている。また「証」の合致と改善度との相関には有意差は見いだせなかった¹⁰⁾としており柴朴湯の必ずしも「証」にとらわれない広い適応が示唆されている。今回の著者の研究においても対象症例を西洋医学的根拠で選び「証」にはほとんど触れなかったが、優れた臨床効果と60%の症例でステロイド使用量の減量が可能であった。難治性喘息における本剤のかかる臨床成績は従来の抗アレルギー薬の成績²³⁾²⁴⁾に比べ特筆すべきことと思われる。

本編ではこの優れた臨床効果をもたらす柴朴湯の薬理作用を明らかにすることを目的とし、西洋医学的手法による種々の基礎的検討を試みた。本剤の I 型アレルギー反応に及ぼす影響として江田ら²⁵⁾²⁶⁾は、IgE 抗体を用いたモルモット実験喘息に対する抑制効果並びにラットの IgE

抗体による48-hr homologous passive cutaneous anaphylaxis (PCA)の抑制作用を報告しており、また中島ら²⁷⁾はダニ喘息患者においてダニ抗原により誘導されるリンパ球表面 IgE-Fc レセプター (Fcε R 2) の発現が柴朴湯500μg/ml添加により抑制されること、さらに高石²⁸⁾らは抗 IgE 刺激によるヒト好塩基球からのヒスタミン遊離が柴朴湯 3 mg/ml添加にて有意に抑制されることを報告している。

IV型アレルギー反応に及ぼす影響に関して江田ら²⁵⁾²⁶⁾は、マウスの picryl chloride (PC) による接触性皮膚炎に対する作用を検討しており、柴朴湯の抑制効果並びに本剤併用によるブレドニゾロンの作用増強効果を示し、さらに柴朴湯の抑制作用は、IV型アレルギー反応における誘導相 (induction phase) すなわち抗原に感作され effector T cell が成立する過程は抑制せず効果相 (effector phase) すなわち effector T cell に抗原が作用し遅延型炎症が発現する過程のみ抑制するとし、induction phase と effector phase の両方を抑制するステロイドとの薬理作用点の相違を強調している。この点に関して著者は、重症難治性喘息の病態におけるIV型アレルギー反応の重要性に着目し、成人の重症難治性喘息患者に柴朴湯 (TJ-96) を長期投与し、特異抗原 (カンジダ) によるリンホカイン産生に及ぼす影響を検討した結果、臨床効果発現時期に一致し IL-2 および NCA 産生の有意な低下を認め、さらに添加実験においても両者の濃度依存性の抑制効果が確認された。従って、重症難治性喘息に対する柴朴湯の重要な薬理作用としては、抗原特異的リンホカイン産生の抑制が示唆された。また、ステロイドは非特異的 T cell の mitogen である PHA によるリンパ球幼若化反応並びに IL-2 産生能を障害する²⁹⁾のに反し、今回の検討において本剤は PHA による両反応を抑制しなかったことから、江田らが示した動物実験の成績と同様、柴朴湯にはステロイドの如き重篤な免疫抑制作用はないことが示唆された。その他柴朴湯の薬理効果として、ヒトリンパ球およびモルモット肺におけるステロイドレセプター減少の抑制³⁰⁾、モルモット実験喘息における気道への好酸球浸潤の抑制作用³¹⁾など

多彩な作用機作が解明されつつあるが、このような効果が実際に喘息患者でも発現するかどうか、今後の検討を要するものと思われる。

なお今回IV型アレルギー反応のパラメーターとしたリンホカインのうち、まず IL-2 は、1976年 Morgan ら³²⁾により T cell growth factor として発見され、特異抗原刺激によりマクロファージからの interleukin 1 を介し Helper T cell から産生される重要なリンホカイン³³⁾であり、多様な免疫調整作用を有し³⁴⁾、抗体産生の調節さらに interferonγ (IFNγ) の誘導作用³⁵⁾を介した遅延型炎症への関与³⁶⁾などからも喘息発症との関連は深いと思われる。また気管支喘息の治療において IL-2 に関して検討した報告もいくつかあり、Kue-Hsiung Hsieh³⁷⁾は、小児気管支喘息患者においてハウスダストの減感作療法後、末梢血リンパ球のハウスダストによる IL-2 産生能が低下すること、向山³⁸⁾らは小児喘息患者のハウスダストによる減感作療法有効例に治療前亢進していたダニに対する IL-2 反応能が治療後低下することを報告している。また、川野ら³⁹⁾は抗アレルギー薬の Tranilast がダニ喘息患者末梢血リンパ球のダニ抗原により誘導される IL-2 反応能を抑制することを添加実験により認めている。次に NCA は最初1977年 Atkins⁴⁰⁾らにより抗原吸入時の気管支喘息患者の末梢血中に見いだされ、その後、抗原吸入後の遅発型気道反応時⁴¹⁾、運動誘発喘息発作の遅発型気道反応時⁴²⁾にも認められ、それらの NCA は肥満細胞・好塩基球由来で分子量約60万の high molecular weight のものであった⁴³⁾。一方単核球由来の NCA に関しては恩田ら⁴⁴⁾は、正常人の単核球を PHA で、ダニ喘息患者の単核球をダニ抗原で刺激し48時間後の培養上清中に NCA 活性のピークを認め、さらにその上清をゲル濾過にかけた結果、分子量3万以下の low molecular weight の NCA を見いだしている。また、P. Maestrelli ら⁴⁵⁾はダニ反応性の T cell lines および Influenza A virus の T cell clones (TLC. 72)を各抗原刺激した際の24時間後の培養上清中に分子量1万の低分子 NCA を認め、活性化 T リンパ球由来の NCA を証明している。今回著者が検討した単核球由来の NCA が

いかなる物質なのかの詳細な検索は今後の課題であるが、抗原刺激による単核球からの NCA の産生が柴朴湯により抑制されたという成績は、本剤がリンパ球・マクロファージ系の活性化を介した好中球の気道局所浸潤を抑制し、従って気管支喘息の重症化に関わりの深い慢性の気道炎症を阻止する可能性を示唆しており興味深い。

気管支喘息を的確に治療してゆくには、まずその発症の病因・病態を正確に把握することが肝要と思われる。とりわけ、現在最も対策を迫られている成人の重症難治性喘息に対処するには、その病因・病態において従来のアトピー型喘息とは基本的にまったく異なった発症機作が存在することを充分理解しておく必要がある。成人の重症難治性喘息の病態は、抗原吸入後に惹起される遅発型あるいは遅延型気道反応の発症機序と数々の共通点を有し、病像の中核にはこれら気道反応の集積であり、即時型気道反応を中心病態とするアトピー型の非難治性喘息とは本質的に異なっていると思われる⁴⁾⁶⁾。すなわち、中高年発症型難治性喘息⁵⁾に代表される非アトピー型喘息の抗原は、ハウスダストではなくカンジダの関与³⁾⁴⁾⁶⁾⁴⁷⁾が重要であり、かかる抗原は肥満細胞あるいは好塩基球と IgE より IgG レセプター⁴⁸⁾⁴⁹⁾を介して細胞表面上で抗原抗体反応をひき起こし、その結果細胞が活性化され LTB₄、PAF、NCF および ECF などの Chemotactic factor が遊離される。さらにもう一つ重要な反応系として、カンジダに感作されたリンパ球・マクロファージ系からの IL-2 および NCA¹⁴⁾、さらに ECA⁵⁰⁾などのサイトカインの遊離による IV 型アレルギー反応の作動があり、その結果、気道局所に好中球、好酸球などの炎症細胞が集積し、ロイコトリエン類⁵¹⁾⁵²⁾をはじめ多彩な化学伝達物質が放出され遷延する重症発作が惹起されるものと思われる。従って、今後の重症難治性喘息の対策の主眼は、IgE を介する I 型アレルギー反応の抑制ではなく、むしろ肥満細胞あるいは好塩基球の IgG レセプター機能抑制⁷⁾⁴⁸⁾とかリンパ球・マクロファージ系からのサイトカイン遊離抑制作用⁷⁾⁵³⁾⁵⁴⁾などの作用機序を有するステロイド剤の有用性に示される如く、IgG を介する III 型アレルギー反応お

よびリンパ球・マクロファージの活性化による IV 型アレルギー反応の制御にあると思われる。かかる観点から、柴朴湯の薬理作用は重症難治性喘息の治療目的に合致しており、副作用の面ではステロイド剤よりも安全であるという利点からも柴朴湯は今後重症難治性喘息の治療薬として期待すべき薬剤ではないかと思われる。

本来、薬剤の臨床効果の評価は、2 重盲検によりなされるべきであるが、柴朴湯 (TJ-96) は前述のごとく多種の生薬の配合剤で漢方特有の味、臭いがありプラセボの作成が困難であったため今回は残念ながら施行し得ていない。今後更なる西洋医学的見地にたった本剤の臨床評価が期待される。

結 論

成人の重症難治性喘息患者 10 例を対象に柴朴湯の臨床効果とその薬理作用に関する基礎的検討を行い以下の結果を得た。

- (1) 臨床効果を発作点数並びにステロイド使用量により検討したところ、柴朴湯投与後 3 ヶ月以降に発作点数の有意な低下がみられた ($P < 0.05$)。ステロイド剤の減量効果は 4 ヶ月以降に有意に認められ ($P < 0.05$)、10 例中 6 例が明かに減量可能であり、うち 50% 以上の減量が 3 例、50% 以下の減量が 3 例であった。
- (2) 患者末梢血単核球からのカンジダ抗原による IL-2 および NCA 産生能は、柴朴湯投与前の亢進状態に比し投与後各々 3 ヶ月および 1 ヶ月以降に有意に抑制された ($P < 0.01$)。一方、PHA によるそれらの産生は低下しなかった。
- (3) 柴朴湯添加による末梢血単核球からのカンジダ抗原による IL-2 および NCA 産生能並びに IL-2 R の発現は有意に抑制された ($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.05$)。

以上より柴朴湯は、重症難治性喘息における IV 型アレルギー反応を抑制し、しかもステロイド剤の如き免疫抑制作用などの重篤な副作用がない点で、柴朴湯は今後、重症難治性喘息の治療において極めて有望な薬剤としての位置付けがなされる可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり御指導御校閲を賜りました恩

師木村郁郎教授に深謝致しますと共に終始懇切なる御指導御助言をいただきました高橋清講師に深謝致します。

(本論文の要旨は第39回日本アレルギー学会総会にて発表した。)

文 献

- 1) 木村郁郎, 高橋 清: 抗アレルギー薬—その特徴と使用法. 宮本昭正編, 新しい喘息治療薬の使い方, 医薬ジャーナル社, 東京 (1988), 75—88.
- 2) 高橋 清: 喘息治療薬の適応と使用法・抗アレルギー剤 (吸入と内服). Medical Practice (1989) 6, 1867—1869.
- 3) 木村郁郎: 老年者の呼吸器疾患—気管支喘息—中高年発症型難治性喘息を中心に—. 老人科診療 (1983) 4, 378—385.
- 4) 高橋 清: 中高年発症型難治性気管支喘息の機序. 第4回免疫薬物療法研究会記録集, 医薬ジャーナル社 (1987), 110—130.
- 5) 木村郁郎: 喘息の病型とその本質論—中高年発症型難治性喘息の独立性. 日胸会誌 (1983) 21, 181—182.
- 6) 木村郁郎: 遅発アレルギーの機序—組織反応を中心に—第3回免疫薬理シンポジウム記録集, デー・エムベ—・ジャパン (1985), 23—40.
- 7) 木村郁郎: ステロイド依存に対する見解. Clinician (1987) 365, 73—77.
- 8) 江頭洋祐: 気管支喘息支喘息に対する柴朴湯エキス剤の長期投与効果—多施設共同試験結果について—. 第5回博多シンポジウム講演記録 (1987), 83—89.
- 9) 小林節雄, 笛木隆三, 野口英世, 田中一正, 川合 満, 倉沢卓也, 西山秀樹, 中島重徳, 吾郷晋浩, 長野 準, 井上越夫, 近藤寛治, 江頭洋祐, 山崎 力, 浅井貞宏, 下田照文, 渡辺 尚, 栃木崇男, 榎田裕一: 気管支喘息に対する柴朴湯エキス剤の長期投与効果の検討—多施設共同試験結果について—. 和漢医薬会誌 (1985) 2, 598—599.
- 10) 長野 準, 小林節雄, 中島重徳, 江頭洋祐: 気管支喘息に対する柴朴湯の長期投与の検討—内科領域多施設 open trial による評価—. 呼吸 (1988) 7, 76—87.
- 11) 伊藤幸治, 宮本昭正: 内科領域における漢方治療の現況, 気管支喘息. 診断と治療 (1989) 6, 1405—1412.
- 12) 木村郁郎, 高橋 清: 気管支喘息—最近の考え方と治療の進歩—. 診断と治療 (1989) 7, 1669—1673.
- 13) 木村郁郎, 武田 昌, 多田慎也, 谷崎勝朗, 高橋 清, 塩田雄太郎, 佐藤 恭, 田村尚彦: 気管支喘息患者の BAL 液中及び末梢血リンパ球の吸入抗原に対する反応性の検討. アレルギー (1984) 33, 812.
- 14) 宮川秀文, 難波一弘, 白石高昌, 名部 誠, 槇本 晃, 佐藤 恭, 武田 昌, 多田慎也, 高橋 清, 木村郁郎: 重症難治性喘息におけるⅣ型アレルギーの関与について—カンジダ抗原による IL-2 産生能と好虫球遊走能—. アレルギー (1988) 37, 12—18.
- 15) 多田慎也: 局所リンパ球. 喘息 (1989) 2, 53—58.
- 16) Gillis S, Marry MF, Winny OU, Smith KA: T cell growth factor: Parameters of production and a quantitation microassay for activity. J Immunol (1978) 120, 2027—2032.
- 17) Gehman LO and Robb RJ: An ELISA-based assay for quantitation of human interleukin 2. J Immunol Method (1984) 74, 39—47.
- 18) Harvath L, Falk W and Leonard EJ: Rapid quantitation of neutrophil chemotaxis. Use of a polyvinylpyrrolidone-free polycarbonate membrane in multiwell assembly. J Immunol Methods (1980) 37, 39—45.
- 19) 永倉俊和, 恩田威文, 飯倉洋治: ケミカルメディエーターの測定法 5. NCF. アレルギーの臨 (1985) 5, 747—748.

- 20) Uchiyama T, Broder S, Waldman TA : A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature human T cells 1. Production of anti-Tac monoclonal antibody and distribution of Tac (+) cells. *J Immunol* (1981) **126**, 1393—1397.
- 21) 太田和雄監修, 野村和弘, 高本 滋編集: フローサイトメトリー—手技と実際—. 蟹書房, 東京 (1988).
- 22) 菊谷豊彦: 漢方療法の気管支喘息 高久史磨監修, 宮本昭正編集, 南江堂, 東京 (1988), 128—130.
- 23) 富岡眞一, 黒岩 源: 抗アレルギー剤との関わり方. *Parma Medica* (1987) **5**, 71—76.
- 24) 中川武正: 喘息治療に際して抗アレルギー薬をいかに使うか—内科的立場より—. *喘息* (1989) **2**, 119—122.
- 25) 江田昭英: 漢方方剤の抗アレルギー作用—主として柴朴湯を中心として—. *アレルギーの臨* (1987) **7**, 16—19.
- 26) 江田昭英, 西依 健, 永井博式, 松浦直資, 土屋博司: 和漢薬の抗アレルギー作用—I型及びIV型アレルギー反応に対する作用—. *日薬理誌* (1982) **80**, 31—41.
- 27) 中島重徳, 東田有智, 荻原順一, 中野直子, 須永 進: 気管支喘息に対する柴朴湯の作用—ダニ抗原によるリンパ球 IgE—Fc の受容体誘導ならびに実験的 IAR, LAR に対する影響—. *漢方と免疫アレルギー* (1990) **3**, 157—165.
- 28) 高石敏昭, 浅川真弓, 森田 寛, 伊藤幸治, 宮本昭正: ヒト好塩基球からのヒスタミン遊離に及ぼす柴朴湯の影響. *漢方と免疫アレルギー* (1990) **3**, 140—145.
- 29) 市川陽一: 副腎皮質ステロイドの免疫抑制作用. *免疫薬理* (1984) **2**, 487—492.
- 30) 土井幸雄, 山崎公世, 大川健太郎, 平池優子, 加藤幸美, 高木 洋, 中島重徳: 柴朴湯のグルココルチコイド受容体に及ぼす影響. *漢方と免疫アレルギー* (1988) **1**, 24—34.
- 31) 戸田正夫, 山井孝夫, 福島康次, 天下井正弘, 阿久津郁夫, 本島新司, 福田 健, 池森亮介: モルモット実験喘息における組織好酸球浸潤に対する柴朴湯の影響. *漢方と免疫アレルギー* (1990) **3**, 146—155.
- 32) Morgan DA, Ruscetti, FW and Gallo, R : Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* (1976) **193**, 1007—1008.
- 33) Kimoto M and Fathman CG : Antigenereactive T cell clones. I. Transcomplementing hybrid I-A-region gene products function effectively in antigen presentation. *J Exp Med* (1980) **152**, 759—770.
- 34) 秋山由紀夫: インターロイキン 2. *現代化学増刊18*, 東京化学同人 (1990), **13**, 25.
- 35) Kasahara T, Hooks JJ, Dougherty SF and Oppenheim JJ : Interleukin 2-mediated immune interferon (IFN- γ) production by human T cells and T cell subsets. *J Immunol* (1983) **130**, 1784—1789.
- 36) Issekutz TB, Stoltz JM and Vander Meide P : Lymphocyte recruitment in delayed-type hypersensitivity. The role of IFN- γ . *J Immunol* (1988) **140**, 2989—2993.
- 37) Hsieh KH : Altered interleukin-2 (IL-2) production and responsiveness after hyposensitization to house dust. *J Allergy Clin Immunol* (1985) **76**, 188—194.
- 38) 向山徳子, 馬場 憲, 野間 剛, 矢田純一: 気管支喘息小児におけるダニ抗原 (*Dermatophagoides farinae*) 刺激及び Phytohemagglutinin 刺激時のインターロイキン 2 反応性ならびに産生能について. *アレルギー* (1987) **36**, 351—357.
- 39) 川野 豊, 野間 剛, 吉沢いづみ, 馬場 実, 矢田純一: 特異抗原で誘導されるリンパ球のインターロイキン 2 反応性に及ぼすトラニラストの影響についての検討. *アレルギー* (1988) **37**, 47—52.
- 40) Atkins PC, Norman M, Weiner H and Zweiman B : Release of neutrophil chemotactic activity during immediate hypersensitivity reaction in humans. *Ann Intern Med* (1977) **86**, 415—418.
- 41) Nagy L, TH and Kay AB : Neutrophil chemotactic activity in antigen-induced late asthmatic reaction. *N Engl J Med* (1982) **306**, 497—501.
- 42) Lee TH, Nagakura T, Papageogiou N, Iikura Y and Kay AB : Exercise-induced late asthmatic

- reactions with neutrophil chemotactic activity. *N Engl J Med* (1983) **308**, 1502—1505.
- 43) Atkins PC, Norman M, Zweiman B and Rosenblum F : Further characterization and biologic activity of ragweed antigen induced neutrophil chemotactic activity in man. *J Allergy Clin Immunol* (1979) **64**, 251—258.
- 44) 恩田威文, 永倉俊和, 飯倉洋治 : 喘息児と水泳, 第4編 *Phytohemagglutinin* 及び抗原刺激による単核球からの Neutrophil Chemotactic Activity 遊離の有無の検討. *アレルギー* (1987) **36**, 299—305.
- 45) Maestrelli P, O'hehir RE, Lamb JR Tsai JJ, Cromwell O and Kay AB : Antigen-induced neutrophil chemotactic factor from cloned human T lymphocytes. *Immunol* (1988) **65**, 605—609.
- 46) 可部順三郎 : 真菌とアレルギー. *治療* (1986) **68**, 2030—2034.
- 47) 木村郁郎, 谷崎勝朗, 高橋 清, 多田慎也, 駒越春樹, 周藤真康, 貴谷 光, 中山堅吾 : 気管支喘息におけるカンジダ抗原の特徴—統計的観察. *日胸疾患会誌* (1986) **24**, 150—155.
- 48) 松岡 孝 : 気管支喘息患者好塩基球の免疫グロブリンセプターと IgG 抗体の作用機序に関する検討. 第1編, 重症難治性喘息における IgG 抗体の役割に関する研究. *岡山医誌* (1986) **98**, 525—535.
- 49) 岡田千春, 高橋 清, 宗田 良, 松岡 孝, 難波一弘, 荒木洋行, 岸本卓巳, 木村郁郎 : 遅発型気道反応における好塩基球表面結合免疫グロブリンの検討—IgG レセプターの関与を中心に. *アレルギー* (1988) **37**, 5—11.
- 50) 河田一郎 : 気管支喘息の発症機序における好酸球の動態に関する研究, 第2編カンジダ抗原による末梢血単核球由来好酸球遊走因子について. *岡山医誌* (1990) **102**, 745—755.
- 51) 高橋 清, 清水一紀, 難波一弘, 中山堅吾, 岡田千春, 辻 光明, 中藤研一, 周藤真康, 多田慎也, 谷崎勝朗, 木村郁郎 : 重症難治性喘息における末梢血好塩球分画からのロイコトリエン産生能に関する検討. *アレルギー* (1988) **37**, 322—330.
- 52) 難波一弘, 高橋 清, 多田慎也, 清水一紀, 中藤研一, 岡田千春, 辻 光明, 沖 和彦, 谷崎勝朗, 木村郁郎 : House dust による気管支喘息患者遅発型気道反応の発症機序に関する検討—気管支肺胞洗浄法を中心に. *アレルギー* (1988) **37**, 67—74.
- 53) Snyder DS, Unanue ER : Corticosteroids inhibit murine macrophage Ia expression and interleukin 1 production. *J Immunol* (1982) **129**, 1803—1805.
- 54) Gillis S, Crabtree GR, Smith KA : Glucocorticoid-induced inhibition of T-cell growth factor production. I. The effect on mitogen-induced lymphocyte proliferation. *J Immunol* (1979) **123**, 1624—1631.

Studies on the treatment for intractable asthma

Part 1. Inhibitory effect of Saiboku-to

on type IV allergy in

intractable asthma

Ryosuke EDA

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

In an effort to clarify the clinical and pharmacological effects of Saiboku-to in intractable asthmatics, the effect of a 6 month administration of Saiboku-to on the production of antigen-specific lymphokines were studied.

The results revealed, first, that a significant decrease in attacks and steroid-sparing effects were obtained after 3 to 4 months administration of Saiboku-to ($P < 0.05$). Second, peripheral blood lymphocyte blastogenesis by *Candida* was significantly suppressed after 3 months ($P < 0.05$), though it was not by PHA. Moreover interleukin 2 (IL-2) production and neutrophil chemotatic activity (NCA) in peripheral blood mononuclear cells stimulated by *Candida* were significantly decreased after 3 months ($P < 0.01$), but not by PHA. Third, in vitro production of both IL-2 and NCA by *Candida* were suppressed in a dose dependent manner and the augmented expression of IL-2 receptors by *Candida* was decreased by Saiboku-to.

These results suggest that the action mechanism of Saiboku-to in intractable asthma seems to be the suppression of type IV allergy. Therefore Saiboku-to therapy might be a useful treatment for intractable asthma due to its relatively less serious side effects as compared with corticosteroids.