



Title	サイコサポニンの免疫薬理学的研究
Author(s)	牛尾, 由美子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/37765
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	牛 尾 由 美 子
博士の専攻分野 の名称	博 士 (薬 学)
学位記番号	第 9887 号
学位授与年月日	平成 3 年 8 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	サイコサポニンの免疫薬理学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 三村 務
	(副査) 教授 近藤 雅臣 教授 真弓 忠範 教授 西原 力

論 文 内 容 の 要 旨

代表的な漢方製剤である柴胡剤（大柴胡湯、小柴胡湯、柴胡桂枝湯）は、古来より“胸脇苦満”を伴う各種の急性あるいは慢性の熱性、炎症性疾患に有効であると言われてきた。また、西洋医学の分野でも、慢性肝炎やネフローゼ症候群などの治療に応用されている。ところで、肝疾患及び炎症性疾患に対する柴胡剤の臨床効果について、柴胡剤の主生薬である柴胡及びその有効成分であるサイコサポニンが抗炎症作用及び抗アレルギー作用を有することが報告され、実験的に証明されつつあるが、その詳細な作用機序についての報告は少ない。近年、報告されている、慢性ウイルス性肝炎の治療における小柴胡湯の有効性からも、小柴胡湯の免疫賦活作用の可能性が推察されており、これまでの基礎的研究により、サイコサポニンの免疫系に対する作用が報告されているが不明の点が多い。そこで、本研究では、サイコサポニン中で特に薬物活性が強いと考えられているサイコサポニン d（以下、ssd と略す。）を用いて、ssd の肝保護作用を、ラット急性肝障害時の肝の過酸化脂質レベル及び血清中の GOT、GPT 値を指標に検討するとともに、サイコサポニンの薬物としての効果の多様性を統合的に把握・理解するために、肝保護作用、抗炎症作用及び抗アレルギー作用発現に少なからず関与すると考えられている免疫機能に対する ssd の影響を明らかにするために、免疫担当細胞であるマウス腹腔マクロファージ及び脾臓リンパ球をとり上げ、それら細胞に対する ssd の作用を ex vivo 及び in vitro の系で検討した。さらに、免疫機能低下マウスの免疫系に対する ssd の作用を検討することにより、免疫担当細胞に対する ssd の in vivo での作用態度をより明らかにすることを試みた。さらに、ssd の作用の構造的的特異性を明らかにするために、ssd と他のサイコサポニンとの構造活性相関を検討するとともに、ssd と他の生薬有効成分との免疫担当細胞に対する作用の比較を行った。またあわせて、ssd の投与経路の違いによる免疫系に対する作用の相違も検討した。

まず、ssdの前投与（筋注）により、ラットCCI₄急性肝障害時の肝の過酸化脂質生成及び血清GOT, GPT値が有意に抑制されることが明らかとなった。また、ssd前投与ラットの肝ミクロゾーム分画におけるin vitroでの過酸化脂質生成反応が顕著に抑制されることが見いだされた。さらに、ssdは、フェノバルビタールで促進される過酸化脂質生成をも著明に抑制することが示された。

マクロファージは、異物や傷害細胞の残片の貪食、抗菌作用、抗腫瘍作用、リンパ球への抗原提示、IL-1の分泌、PGの合成などを介した免疫応答の調節など多様にわたる作用を持っている。ssdの前投与により、マウス腹腔内マクロファージの貪食能、伸展能、消化能、細胞内acid phosphatase活性、Fc receptorの発現、活性酸素産生、IL-1産生という機能が全て亢進し、その際、表層構造、細胞骨格（actin filament及びB-tubulin）、内部構造の構築の変化を伴うことが見いだされた。また、このssdによるマクロファージの活性化は、ssdの単なる刺激でもendotoxinの混入によるものではないことが確認された。また、ssdはin vitroの添加でマクロファージの遊走能及び活性酸素産生を促進した。

次に、マウス脾臓リンパ球の免疫応答に対するssdの作用を、リンパ球の抗体産生能及び幼若化反応を指標に検討した。ssdは、SRBCに対する抗体産生能を増強し、リンパ球のmitogen無添加での幼若化反応を亢進させたが、T cell mitogenに対しては抑制反応をもたらした。また、ssdは、in vitroの添加でそれ自身リンパ球のmitogen活性を示さないが、T cell mitogenに対し抑制傾向を示し、B cell mitogenに対し促進傾向を示すことが明らかとなった。

さらに、各免疫機能低下マウスに及ぼすssdの影響を検討したところ、nu/nuマウス及び老齢マウスに対してはssdによる顕著なマクロファージ活性化作用が認められたが、脾摘マウスに対しては顕著な作用が認められず、ssdは胸腺の正常な機能に非依存的にマクロファージを活性化するが、脾臓が何らかの役割をもつことが示唆された。

さらに、ssdをマウスに腹腔内投与したところ、筋注と比較してマクロファージの貪食能及び伸展能の亢進がより顕著で炎症的活性化の可能性が示唆された。

サイコサポニンと構造類似のグリチルリチンにはマクロファージの活性化傾向が認められたが、グリチルレチン酸及び人參サポニンRg1にはマクロファージ活性化作用が認められなかったこと、ssa, ssb₁, ssb₂, ssc, ssdにはマクロファージ活性化作用が認められたこと、サイコゲニンG（ssdのアグリコン部分）には弱い活性化作用しか認められなかったことより、顕著なマクロファージ活性化作用発現には、トリテルペン系オレアナン骨格を有する配糖体が重要な構造であることが示された。

ssdは、このように免疫応答の初期の段階でマクロファージのエフェクター機能を増強し、その結果、抗体産生能の上昇、T cell及びB cellの幼若化反応の亢進または低下を示した。さらに、ssdにより活性化されたマクロファージが何らかのケミカルメディエーターを分泌し、一方ではB cellに作用し抗体産生細胞の分化増殖を促進し、地方ではT cell機能を抑制するという免疫調節機構が働いていることが示唆された。

さらに、小柴胡湯及び柴胡には生体の内因性副腎皮質ホルモンの分泌を亢進し、ステロイド剤のmodifier的な作用のあることが知られている。一方、近年、マクロファージより産生されるIL-1

が視床下部－脳下垂体－副腎系を介してコルチコステロンの分泌を増加させることが見いだされている。ssdの抗炎症作用機序として、ssd投与によりマクロファージからの産生の亢進したIL-1が血中コルチコステロンを上昇させ、抗炎症作用に寄与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は古来、炎症性疾患に有効とされてきた柴胡剤（大柴胡湯、小柴胡湯、柴胡桂枝湯）の有効成分、サイコサポニンdの各種免疫担当細胞に対する作用を検討したものである。

サイコサポニンdの作用をまとめると次の通りである。

(1) マクロファージの貪食能、消化能、伸展能、活性酸素産生能、インターロイキン1産生能を亢進する。

(2) 抗体産生能を増強し、リンパ球のマイトージェン無添加での幼若化反応を亢進するが、T-cellマイトージェンに対しては抑制的に、B-cellマイトージェンに対しては促進的に作用する。しかしサイコサポニンd自体にはマイトージェン活性はない。

(3) マクロファージの活性化は脾臓、リンパ球に対する作用は胸線依存性である。

(4) マクロファージ活性化には配糖体としてのナレアナン骨格が必須である。

以上のように本論分は柴胡の有効成分を用いて、その免疫担当細胞に対する作用を初めて明らかにしたもので、臨床的にも用いられている柴胡剤の作用機作を解明する上で寄与するところ大である。よって本論分は博士論文として価値あるものと認める。