



Title	総合医療における生薬製剤の意義：エビデンス構築 へ向けた基盤研究
Author(s)	森崎, 智子
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/46123
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

総合医療における生薬製剤の意義：
エビデンス構築へ向けた基盤研究

2013 年

大阪大学大学院 薬学研究科・応用医療薬科学専攻

伝統医薬解析学分野

森崎 智子

目次

緒論	3
本論	6
第一章 生薬製剤治療における臨床評価	6
第一節 セルフメディケーションに関する意識調査	8
第二節 生薬製剤治療におけるエビデンスの現状	24
第三節 生薬製剤治療におけるQOL評価の有用性	31
第四節 考察及び小括	36
第二章 生薬製剤の薬物相互作用評価系モデル構築	40
第一節 バイカリン連日経口投与によるラット小腸CYP酵素活性及びタンパク発現 量へ及ぼす影響	42
第二節 ラット腸洗浄液によるバイカリン代謝能力の検討	47
第三節 1 α , 25-(OH) $_2$ -D $_3$ によるCYP3A4誘導Caco-2細胞のバイカレイン取り込みとバ イカリン形成	49
第四節 腸吸収・代謝 相互作用評価モデルに基づいたバイカリンの小腸CYP酵素活 性及びP-gpに及ぼす影響	52
第五節 考察及び小括	57
結論	61
謝辞	62
参考文献	64
主論文・参考論文リスト	70

緒論

先進国の少子高齢化に伴う医療費負担の増大と、開発途上国の人口増加に伴う医療サービス供給不足等、医療の課題は年々グローバル化している。この問題に対応するには近代西洋医学に偏った医療では限界があり、西洋医学の中心となる「対症療法」と東洋医学に根ざした「原因療法」を統合することによって両者の特性を生かし、患者一人一人に最も適切な「テーラーメイド医療」を提供しようとする「統合医療」の重要性が近年では唱えられている^{1,2}。

「テーラーメイド医療」において、医療費削減・医療経済へ貢献するものとしてセルフメディケーションは更なる推進が期待されている。日本の医療費は平成 23 年に 37.8 兆円に達し、更にその高騰は止まらず 2025 年までに 55 兆円にも上ると推測されている。しかし、セルフメディケーションの実践により 10 兆円から 15 兆円の削減が見込めるとの試算が出されており、国策としてセルフメディケーションの推進が図られている³。

セルフメディケーションとは各自が自己管理の下に病気を予防し、自己治療を行い、QOL (Quality of Life : 生活の質) 向上を目指そうとするものである。従来のセルフメディケーションの基本概念は、OTC 薬などを用いた軽度疾患の自己治療が中心と考えられており、WHO では「自分自身の健康に責任を持ち、軽度な身体の不調 (minor ailments) は自分で手当てすること」と定義している⁴。しかしながら、近年では生活習慣病の予防、未病改善へと移行し、鍼灸や健康食品、サプリメント等の相補・代替医療による治療・予防へと拡大してきた⁵。一般医薬品 (Over The Counter : OTC) や、相補・代替医療に用いられる健康食品・サプリメント、また、患者一人一人の体質や症状を「証」という概念で個別化して捉え、それぞれに応じた処方を用いて治療する漢方製剤は、テーラーメイド医療を支える重要な役割を担うと考えられる。

近年医薬品販売の規制緩和により、処方箋なしに入手できる OTC 薬や、国民の健康志向の高まりから種々の健康食品やサプリメント等、健康増進のための選択肢が増えてきた

一方で、使用する患者側の適正使用のための知識は十分とはいえない。適正使用に関する知識不足や誤った認識が副作用発現を誘引する懸念があり、セルフメディケーションによる QOL 向上のためには、生活者各個人が適正使用に関する適切な知識を身につけることが欠かせない。そのため、生活者の意識・知識だけでは効果的なセルフメディケーションの実践は困難であり、意識の向上、定着のためには、医師・薬剤師等専門家によるサポート体制や、制度・慣習改善の環境整備等、生活者を取り巻く連携体制が重要ある⁵⁻⁸。しかしながら、漢方製剤を含む生薬製剤や相補・代替医療では、薬効に関する作用機序の基盤データ、及び臨床評価の科学的エビデンス不足が問題視され、この連携体制を進める上での障害となっており、科学的エビデンス構築が急務である。

東西医薬品の併用投与は有効な治療手段として近年併用が増えているが、歴史的経験知は東西薬物併用療法を想定していなかったため、St.John's Wart のように生薬製剤の相互作用事例も報告されており^{9,10}、適正使用のため情報蓄積が課題である。Herb-drug 相互作用機序の解明は今後の発生予測に役立ち、Herb-drug 相互作用に基づく副作用発現予防につながることから、臨床現場への情報提供が期待されるものである。これまで、東西医薬併用療法の適正使用・リスク回避を目的とした有用な評価系構築が困難であった主要因は、多成分系の天然物であり、すべて経口剤で、単回ではなく、長期継続服用である等が考えられる。特に、生薬の主成分または指標成分の多くが配糖体であることから、通常の経口医薬品開発時の評価対象外である水溶性の高い薬物（成分）をターゲットにして、*in vivo*、*in vitro* で吸収・代謝評価を可能にする必要がある。

経口薬剤は消化管で吸収後、門脈、肝臓を経て全身循環に入る。CYP3A4 はヒトチトクロム P450 (CYP) に最も多く存在する分子種で、従来は肝臓の CYP 酵素が薬物動態学的相互作用の主要な因子として考えられていた。しかし検討が進むにつれ、小腸にも CYP3A4 が CYP 酵素全体の 30% 程度分布しており、経口投与薬剤は小腸での薬物動態が相互作用の主要な因子であることが明らかになってきた^{11,12}。また、生薬製剤の含有成分は腸内環境

による代謝変換がその成分挙動に大きく影響すると考えられる。

小腸での吸収・代謝評価モデルの有用性は従来から検討されており、ヒト結腸癌由来培養細胞である Caco-2 細胞が汎用されている。しかしながら、酵素活性測定検出限界の問題や、分子種の課題が克服されておらず、生薬製剤の特性に対応する更なる小腸での吸収・代謝評価モデルの開発が期待されている。

本研究では、西洋医学と東洋医学の融合による医療推進へ向けて、薬学の観点から貢献し、臨床現場へ適正使用のための有用な情報還元を行うことを目的としている。

第一章ではセルフメディケーションに関する現状調査、国民の意識調査の報告、また、生薬製剤治療における臨床評価の現状を科学エビデンス調査結果により報告し、「テーラーメイド医療」へ向けての今後の課題を示す。

更に第二章では小腸における薬物相互作用評価モデル構築を目指して検討を行った。腸内環境を考慮した小腸における生薬製剤の吸収、代謝モデルの構築を目指し、 $1\alpha, 25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$ により CYP3A4 高活性を安定保持する Caco-2 細胞に、ラット腸洗浄液を加えることで *in vivo* で認められる事象を *in vitro* で再現できる評価系の有用性について検討し、ここに学位論文としてまとめた。

本論

第一章 生薬製剤治療における臨床評価

生薬製剤を含む OTC 薬やサプリメントはセルフメディケーションにおいて重要な役割を担っている。世界の医薬品市場において全体の約 20%の売り上げを占めることが報告され¹³、年々上昇傾向にある^{14,15}。国民の健康や医療に対する意識には、その国の医療制度や生活環境、歴史的な背景が大きく影響を与えると考えられ、国民意識を把握することはセルフメディケーションの推進をしていく上で非常に有用な情報源であると考えられる。欧米諸国ではセルフメディケーションや健康に関する国民の意識調査が積極的に報告され、適正使用へ向けて注意提起し、セルフメディケーションの実践へ活用している。欧米の意識調査報告では、OTC 薬や生薬等のハーブ系サプリメントに対して、一般的に「安全性が高い」という偏った認識や不十分な知識レベルに対する懸念に注意喚起がなされており、適正使用の上で個人が正しい知識を持つことが課題とされている¹⁶⁻²⁰。

日本を含む東アジア地域で使用される生薬製剤は欧米のハーブ等の市場品とは異なる独特な治療体系のもとに発展してきたもので、その国々の文化に深く根ざしている。しかしながら、日本を含む東アジア地域においてはセルフメディケーションに関連した意識調査の学術的研究は少なく、国民の意識・知識レベルにおける問題点の把握は有益であると考えられる。

アジア地域の生活に深く根付いている伝統薬等、生薬製剤は個人個人の症状に応じて処方され、歴史的な経験値の蓄積によりその治療体系を構築してきた独特の体系を有している。しかしながら近年発展してきた「科学的根拠に基づく医療（EBM：evidence based medicine）」の概念では、質の高いエビデンスとして二重盲検ランダム化比較試験（Double-Blind Randomized Control Trial：Double blind RCT）やランダム化比較試験（RCT）が提唱されており（Table 1）^{21,22}、生薬製剤は科学的エビデンスが乏しいという評価がなさ

れてしまう。西洋医学で発展した EBM 理論を生薬製剤治療の分野でも導入する試みが行われているが、その実態は明らかではない。日本では医療用漢方製剤の承認申請において RCT は必須とされておらず、添付文書や市販後のインタビューフォーム等に臨床試験成績に関する記載はほとんどない。

漢方製剤の基盤となる東洋医学では「病気になるつつある状態」として「未病」という概念があるが、種々の自覚症状、QOL の低下が認められるものの検査上異常がないことから、西洋医学上では治療対象にされず放置されてきた。西洋医学では 1940 年以前は罹患率や死亡率といった指標や、身体所見や検査値データ等の客観的データに基づいた量的指標による評価が重要視されていた。しかし医学の進歩によって急性疾患が減少し、慢性疾患や長期在宅治療患者が増加した状況下では、患者は侵襲性の高い治療や延命措置による苦痛の緩和を求めるようになり、患者の視点にたった主観的・質的指標による評価方法が重要視され、QOL 向上が治療の目標とされる傾向が高まってきた²³⁻²⁵。

身体所見や検査値データ等の客観的データ上の異常が認められずとも、患者の主観に基づいた治療を目標とする QOL 向上は、東洋医学における未病治療の考え方と非常に類似している。QOL 分野においてエビデンス蓄積のために評価尺度の開発、標準化が進められている。我々は QOL の分野が、西洋医学と東洋医学の融合の起点となりうる可能性に着目した。

Table 1 Level of Evidence

スケール	分類
I	システマティック・レビュー/ランダム化比較試験 (RCT) のメタアナリシス
II	一つ以上のランダム化比較試験 (RCT) による
III	非ランダム化比較試験による
IV	分析疫学的研究 (コホート研究、症例対照研究、横断研究による)
V	記述的研究 (症例報告や症例集積研究による)
VI	専門委員会の報告や意見、あるいは有識者の臨床経験

文献 Siwek J²¹、Booth A²² より改変

第一節 セルフメディケーションに関する意識調査

米国及び東アジア各国の伝統薬やサプリメント使用経験を明らかにし、健康や医療に対する意識調査を行い、セルフメディケーションの現状把握を目的として実施した。

【方法】

1 アンケート調査の実施

回答収集期間：2009年1月から2010年12月

対象国：日本、中国、韓国、及び米国

以下に示す各国の大学の協力を得て回答を収集した。

- 兵庫県阪神シニアカレッジ（日本）
- 瀋陽薬科大学（中国）
- 大邱カトリック大学（韓国）
- 忠南大学（韓国）
- セントジョンズ大学（米国）
- アラバマ大学ハンツビル校（UAH）（米国）

対象者：当該国に10年以上居住し、回答時点で居住している者。且つ、本アンケート調査への協力に書面により同意した者

アンケート調査票言語：日本人には日本語を、日本を除く3か国には英語版を使用した。

2 アンケート調査票の作成

意識調査に関して標準化された調査票がないことから、アンケート調査票の作成を行った。まず日本語版を作成し、英語に翻訳後、英語翻訳版を外国人医師らによって医学的及び言語学的校閲を受けて修正し、英語版を作成。その英語版を更に日本語へ逆翻訳し、元々の日本語版との比較し、修正を行い、日本語版と英語版を作成した（Attachment 1、2参照）。

3 統計解析

IBM SPSS Windows version 21.0を用い、 χ^2 乗検定、またはFisherの正確確率検定により有意差検定を行った。統計的有意差はp値が5%未満により評価した。

【結果】

1. 回答者背景

回答は4か国から、それぞれ日本133名、中国101名、韓国242名、米国89名の、計565名から回答を得た（Table 2）。回答者の性別は各国でばらつきは認められたものの、全体的に男女比のバランスがとれていた。年代別に関しては各国の大学に協力を仰ぎ、回答を得た背景から、回答者の大多数は大学在籍中の学生であり、20代の回答者が半数以上を占めていた。

2. 使用経験動向

まず、経験に関する質問項目と背景因子である性別、国、年齢との関連性をそれぞれ Table 3-5 に示した。その結果、伝統医薬品、サプリメントの使用経験者はいずれも約70%と高い使用経験が示された。また性別との関連性が有意に認められたのはサプリメント使用経験で、女性の方が高い使用経験を示した。更に伝統医薬品、サプリメント共に、使用経験と国間に有意な関連性が認められ、特に伝統医薬品については中国で92%、米国で約16%と、顕著な差が示され、アジア3か国全体で71.4から92.1%と米国に比べて伝統薬及びサプリメントの使用経験が多い傾向が認められた。

なお、医薬品やサプリメントのインターネット購入と性別、国、年齢との間に関連性はなく、購入経験は20%未満と低い普及率を示した。

3. 意識・認識の現状

意識・認識に関する各質問項目に対する回答結果と国との関連性を示した (Table 6)。

3.1 医薬品、非医薬品に関する定義の理解

「(Q10) 医療用と一般用医薬品間の違いを知っている」という回答者は約 65%であった一方で、「伝統医薬品 (漢方薬など)、健康食品、サプリメントの違いを知っている (Q3)」という回答者数は約 50%と、医療用と一般用医薬品間の差の認知度と比べて、伝統薬・健康食品・サプリメントの違いの認知度は低い傾向が示された (Table 6-Q3、Q10)。

3.2 医薬品の安全性及び有効性

一般的な医薬品の安全性及び有効性に関する認識に関する次の 4 つの質問項目に関して、各国ばらつきがあるものの、概ねいずれの国でも類似した傾向が認められ、認識に関して国間に大きな乖離がないことが示唆された (Table 6-Q7、Q8、Q12、Q14)。

医薬品の安全性及び有効性に関する 4 質問は以下のとおり。

- ・ 「すべての医薬品には副作用がある (Q7)」
- ・ 「医薬品は服用方法を守らないと、効果を発揮しない (Q8)」
- ・ 「医薬品の副作用の程度や頻度は、服用方法に依存している (Q12)」
- ・ 「医薬品は、長期間服用した時のみに副作用が発現する (Q14)」

3.3 サプリメント、伝統医薬品の安全性及び有効性

「サプリメントや健康食品は安全である (Q6)」と答えた回答者数と国の間に有意な関連性があり、米国で 61.6%と他国より安全性への信頼度が高い傾向が認められた。一方で「伝統薬は作用が緩徐である (Q19)」という回答者数は中国で 73.7%と他国より高く、国間の認識の違いがうかがえた。また、伝統薬に関しては「国外で販売されている伝統薬が安全

性である (Q16)」という質問にはいずれの国も「誤 (False)」または「わからない (Not Sure)」という回答者数が高く、国外で販売されている伝統医薬品の安全性に対する不安感が示された (Table 6-Q6、Q19)。

4. 服用コンプライアンス

「主治医から長期にわたり、医薬品の継続服用を指示されても、副作用が気になるため、時々服用しないことがある (Q9)」という質問に「指示通り服用する」という回答者数は米国で 81.8%と最も高く、中国、韓国で約 60%、日本では 33.9%と米国に比べて低い傾向が認められた (Table 6-Q9)。このことから、米国ではアジア各国と比べて医師による処方指示への信頼度が高い、またはアジアで医薬品に対する不安感が強いことが示唆された。

Table 2 Demographic data

		No. of respondents (%)				
		Total	Japan	China	Korea	US
Total		565 (100%)	133 (17.9%)	101 (23.5%)	242 (42.8%)	89 (15.8%)
Gender	Male	286 (50.6%)	45	40	155	46
	Female	249 (44.1%)	66	61	83	39
Age	~14	4 (0.7%)	0	2	2	0
	15~20	27 (4.8%)	1	3	2	21
	21~30	292 (51.7%)	15	90	167	30
	31~40	97 (17.2%)	22	6	52	17
	41~50	55 (9.7%)	35	0	12	8
	51~60	27 (4.8%)	14	0	4	9
	61~70	41 (7.3%)	35	0	3	3
	71~	12 (2%)	11	0	0	1

Table 3 Associations between gender and the respondent's experiences

		No. of respondents (%)		Chi2	df	p
	Yes	No				
Q1. Have you ever used any Chinese herbal medicine?						
これまでに、伝統医薬品（漢方薬など）を服用したことがありますか？						
Total	361(67.7%)	172(32.3%)				
Female	174 (69.9%)	75 (30.1%)	0.988	1	0.320	
Male	187 (65.8%)	97 (34.2%)				
Q2. Have you ever used any supplements?						
これまでに、サプリメントを服用したことがありますか？						
Total	372(70.3%)	157(29.7%)				
Female	187 (75.1%)	62 (24.9%)	5.148	1	< 0.05	
Male	185 (66.1%)	95 (33.9%)				
Q15. Have you ever bought a medicine or supplement via the internet?						
これまで、インターネットにより医薬品やサプリメントを購入したことがありますか？						
Total	73(14.9%)	418 (85.1%)	2.177	1	0.140	
Female	40 (17.4%)	190 (82.6%)				
Male	33 (12.6%)	228 (87.4%)				

df=degree of freedom

Table 4 Associations between country and the respondent's experiences

	No. of respondents (%)				
	Yes	No	Chi2	df	p
Q1. Have you ever used any Chinese herbal medicine?					
これまでに、伝統医薬品（漢方薬など）を服用したことがありますか？					
Total	383(68.1%)	179(26.2%)			
Japan	95 (71.4%)	38 (28.6%)	143.784	3	< 0.05
China	93(92.1%)	8 (7.9%)			
Korea	181(75.4%)	59 (24.6%)			
US	14(15.9%)	74 (84.1%)			
Q2. Have you ever used any supplements?					
これまでに、サプリメントを服用したことがありますか？					
Total	393(70.4%)	165(29.6%)			
Japan	96 (72.7%)	36 (27.3%)	11.477	3	< 0.05
China	69 (68.3%)	32 (31.7%)			
Korea	179 (75.2%)	59 (24.8%)			
US	49 (56.3%)	38 (43.7%)			
Q15. Have you ever bought a medicine or supplement via the internet?					
これまで、インターネットにより医薬品やサプリメントを購入したことがありますか？					
Total	80(15.4%)	440(84.6%)			
Japan	16 (12.0%)	117 (88.0%)	4.326	3	0.228
China	11 (11.2%)	84 (88.4%)			
Korea	39 (19.0%)	166 (81.0%)			
US	14 (16.1%)	73 (83.9%)			

df=degree of freedom

Table 5 Associations between Age and the respondent's experiences

	No. of respondents (%)		Fisher's exact p
	Yes	No	
Q1. Have you ever used any Chinese herbal medicine?			
これまでに、伝統医薬品（漢方薬など）を服用したことがありますか？			
Total	361(68.1%)	172(31.9%)	< 0.05
~14 yrs	3(0.5%)	0(0.0%)	
15~20	8(1.4%)	19(3.4%)	
21~30	219(39.0%)	82(14.6%)	
31~40	65(11.6%)	32(5.7%)	
41~50	39(6.9%)	16(2.8%)	
51~60	16(2.8%)	10(1.8%)	
61~70	23(4.1%)	18(3.2%)	
71~	10(1.8%)	2(0.4%)	
Q2. Have you ever used any supplements?			
これまでに、サプリメントを服用したことがありますか？			
Total	393(70.4%)	165(29.6%)	< 0.05
~14 yrs	3(0.5%)	0(0.0%)	
15~20	10(1.8%)	17(3.0%)	
21~30	203(36.4%)	96(17.2%)	
31~40	78(14.0%)	17(3.0%)	
41~50	46(8.2%)	9(1.6%)	
51~60	23(4.1%)	4(0.7%)	
61~70	24(4.3%)	16(2.9%)	
71~	6(1.1%)	6(1.1%)	
Q15. Have you ever bought a medicine or supplement via the internet?			
これまで、インターネットにより医薬品やサプリメントを購入したことがありますか？			
Total	80(15.4%)	440(84.6%)	0.189
~14 yrs	2(0.4%)	2(0.4%)	
15~20	2(0.4%)	24(4.6%)	
21~30	46(8.8%)	221(42.5%)	
31~40	16(3.1%)	72(13.8%)	
41~50	8(1.5%)	47(9.0%)	
51~60	3(0.6%)	24(4.6%)	
61~70	3(0.6%)	38(7.3%)	
71~	0(0.0%)	12(2.3%)	

df=degree of freedom

Table 6 Associations between country and the respondent's awareness

	No. of respondents (%)		Chi ²	df	p
	Yes	No or Not sure			
Q3. Do you know the difference between Chinese herbal medicines, healthy foods and supplements? 伝統医薬品（漢方薬など）、健康食品、サプリメントの違いを知っていますか？					
Total	282(50.4%)	278(49.6%)			
Japan	66 (51.2%)	63 (48.8%)	3.705	3	0.296
China	59 (58.4%)	42 (41.6%)			
Korea	114 (47.3%)	127 (52.7%)			
US	43 (48.3%)	46 (51.7%)			

df=degree of freedom

Table 6 Associations between country and the respondent's awareness(continued)

	No. of respondents (%)		Chi ²	df	p			
	Food	Medicine						
Q4. What do you believe? Are supplements food or medicine?								
サプリメント食品、伝統医薬品のどちらを信頼していますか？								
Total	122(30.9%)	273(69.1%)						
Japan	6(7.2%)	77(92.8%)	48.830	3	< 0.05			
China	43(58.9%)	30(41.1%)						
Korea	52(29.7%)	123(70.3%)						
US	21(32.8%)	43(67.2%)						

df=degree of freedom

	No. of respondents (%)			Chi ²	df	p
	True	False	Not sure			
Q5. If you do not have an ideal healthy life style, do you believe that supplements and health foods will improve your health?						
あなたが理想的で健康的な生活が送れていない場合、サプリメントや健康食品が自身の健康を改善すると思いますか						
Total	323(57.5%)	67(11.9%)	172(30.6%)			
Japan	45(34.1%)	18(13.6%)	69(52.3%)	53.931	6	< 0.05
China	57(56.5%)	13(12.9%)	31(30.7%)			
Korea	172(71.4%)	25(10.4%)	44(18.3%)			
US	49(55.7%)	11(12.5%)	28(31.8%)			

Q6. Are supplements and health foods safe?						
サプリメントや健康食品は安全ですか？						
Total	160(28.6%)	84(15.0%)	315(56.4%)			
Japan	16 (12.1%)	18 (13.6%)	98 (74.2%)	74.825	6	< 0.05
China	17 (16.8%)	18 (17.8%)	66 (65.3%)			
Korea	74 (30.8%)	41 (17.1%)	125 (52.1%)			
US	53 (61.6%)	7 (8.1%)	26 (30.2%)			

Q7. All medicines have adverse side effects.						
すべての医薬品は副作用を有する						
Total	432(76.7%)	50(8.9%)	81(14.4%)			
Japan	93 (69.9%)	10 (7.5%)	30(22.6%)	18.476	6	< 0.05
China	74 (73.3%)	9 (8.9%)	18(17.8%)			
Korea	190 (79.2%)	20 (8.3%)	30(12.5%)			
US	75 (84.3%)	11 (12.4%)	3(3.4%)			

Q8. Medicines do not work well, if you do not follow instructions.						
医薬品は服用方法を守らないと、効果を発揮しない						
Total	422(75.1%)	51(9.1%)	89(15.8%)			
Japan	118 (88.7%)	3 (2.3%)	12 (9.0%)	54.837	6	< 0.05
China	54 (53.5%)	18 (17.8%)	29 (28.7%)			
Korea	170 (71.1%)	23 (9.6%)	46 (19.2%)			
US	80 (89.9%)	7 (7.9%)	2 (2.2%)			

df=degree of freedom

Table 6 Associations between country and the respondent's awareness(continued)

		No. of respondents (%)		Chi2	df	p
		Me, neither.	I take it as directed.			
Q9. When my doctor tells me to continue a medication chronically, sometimes I do not comply because I am worried about its adverse side effects.						
主治医から長期にわたり、医薬品の継続服用を指示されても、副作用が気になるため、時々服用しないことがある						
Total		248(44.8%)	306(55.2%)			
Japan		84 (66.1%)	43 (33.9%)	48.814	3	< 0.05
China		43 (43.0%)	57 (57.0%)			
Korea		105 (43.9%)	134 (56.1%)			
US		16 (18.2%)	72 (81.8%)			

		No. of respondents (%)		Chi ²	df	p
		Yes	No or Not sure			
Q10. Do you recognize that there are differences between prescription drugs and nonprescription drugs? (Ex. Identity and amount of effective ingredient.)						
医療用医薬品と一般用(OTC)医薬品の違いをしていますか？(有効成分の種類やその量の違いなど)						
Total		352(64.0%)	198(36.0%)			
Japan		69 (52.7%)	62 (47.3%)	11.070	3	< 0.05
China		70 (70.0%)	30 (30.0%)			
Korea		159 (68.5%)	73 (31.5%)			
US		54 (62.1%)	33 (37.9%)			

		No. of respondents (%)			Chi ²	df	p
		Doctor	Pharmacist	Not sure			
Q11. Who do you think knows more about drugs, doctors or pharmacists?							
医薬品の情報について、医師、薬剤師のどちらがより知っていると思いますか？							
Total		104(18.9%)	361(65.8%)	84(15.3%)			
Japan		20(15.4%)	79(60.8%)	31(23.8%)	27.151	6	< 0.05
China		21(21.0%)	55(55.0%)	24(24.0%)			
Korea		44(18.9%)	172(73.8%)	17(7.3%)			
US		19(22.1%)	55(64.0%)	12(14.0%)			

df=degree of freedom

Table 6 Associations between country and the respondent's awareness(continued)

	No. of respondents (%)			Chi ²	df	p
	True	False	Not sure			
Q12. The effectiveness and the frequency of adverse side effects of a medication depend on the dosing schedule.						
医薬品の副作用の程度や頻度は、服用方法に依存している						
Total	319(58.1%)	83(15.1%)	147(26.8%)	45.773	6	< 0.05
Japan	43 (33.1%)	32 (24.6%)	55 (43.3%)			
China	65 (65.0%)	12 (12.0%)	23 (23.0%)			
Korea	159 (68.2%)	28 (12.0%)	46 (19.7%)			
US	52 (60.5%)	11 (12.8%)	23 (26.7%)			
	No. of respondents (%)			Chi ²	df	p
	Yes	No or Not sure				
Q13. Do you feel anxious when you buy over-the-counter drugs from a store lacking a pharmacist? (Ex. The convenience store)						
あなたは薬剤師のいない店舗（コンビニエンスストアなど）で、一般用医薬品(OTC 薬)を購入する際、不安を感じますか？						
Total	268(48.4%)	286(51.6%)		48.802	3	< 0.05
Japan	62(46.6%)	71(53.4%)				
China	58(58.0%)	42(42.0%)				
Korea	134(57.5%)	99(42.5%)				
US	14(15.9%)	74(84.1%)				
	No. of respondents (%)			Chi ²	df	p
	True	False	Not sure			
Q14. Medications produce adverse side effects only when administered chronically.						
医薬品は、長期間服用した時のみに副作用が発現する						
Total	71(12.9%)	330(59.9%)	150(27.2%)	29.830	6	< 0.05
Japan	5 (3.8%)	95 (72.0%)	32 (24.2%)			
China	19 (19.0%)	63 (63.0%)	18 (18.0%)			
Korea	39 (16.7%)	129 (55.4%)	65 (27.9%)			
US	8 (9.3%)	43 (50.0%)	35 (40.7%)			
Q16. Drugs, including traditional herbal medicine, Chinese herbal medicine and crude drugs, purchased from foreign countries, are safe.						
国外で販売されている伝統医薬品（生薬製剤、中成薬など）は安全である						
Total	35(6.3%)	221(40.0%)	296(53.6%)	32.924	6	< 0.05
Japan	2 (1.5%)	46 (34.6%)	85 (63.9%)			
China	6 (6.0%)	51 (51.0%)	43 (43.0%)			
Korea	21 (3.1%)	105 (45.3%)	106 (45.7%)			
US	6 (6.9%)	19 (21.8%)	62 (71.3%)			

df=degree of freedom

Table 6 Associations between country and the respondent's awareness(continued)

No. of respondents (%)						
	True	False	Not sure	Chi ²	df	p
Q17. If a medication, which is imported by an individual, causes a health problem, the person should take full responsibility for his actions. His insurance company is not responsible for his health problem. 医薬品の個人輸入により健康被害が起こった場合、自己責任となり、そのような健康被害に対して、あなたが加入している保険ではカバーされない。						
Total	197(35.6%)	140(25.3%)	216(39.1%)			
Japan	64(48.1%)	4(3.0%)	65(48.9%)	51.984	6	< 0.05
China	25(25.0%)	38(38.0%)	37(37.0%)			
Korea	82(35.3%)	66(28.4%)	84(36.2%)			
US	26(29.5%)	32(36.4%)	30(34.1%)			
Q18. The effectiveness of crude drugs (natural plants, animals and minerals) depends on the quality of the material. 生薬（天然の植物、動物、鉱物）の効果は基源生物・材料の品質に依存している						
Total	340(61.7%)	62(11.3%)	149(27.0%)			
Japan	58(44.3%)	5(3.8%)	68(51.9%)	79.141	6	< 0.05
China	79(79.0%)	17(17.0%)	4(4.0%)			
Korea	150(64.7%)	34(14.7%)	48(20.7%)			
US	53(60.2%)	6(6.8%)	29(33.0%)			
Q19. Chinese herbal medicines have a slow onset of action. 伝統医薬品の効果は緩やかである						
Total	252(45.9%)	95(17.3%)	202(36.8%)			
Japan	58 (44.6%)	29 (22.3%)	43 (33.1%)	87.836	6	< 0.05
China	73 (73.7%)	9 (9.1%)	17 (17.2%)			
Korea	101 (43.5%)	53 (22.8%)	78 (33.6%)			
US	20 (22.7%)	4 (4.5%)	64 (72.7%)			
No. of respondents (%)						
	U.S. diet	Health food diet	Not sure	Chi ²	df	p
Q20. If you had a choice of consuming an average or normal U.S.diet and a diet rich in health foods, what would be your choice? 通常の食品と健康食品のどちらかを摂取する場合、あなたはどちらを選びますか						
Total	166(30.0%)	276(49.9%)	111(20.1%)			
Japan	100(75.2%)	16(12.0%)	17(12.8%)	197.332	6	< 0.05
China	10(10.0%)	70(70.0%)	20(20.0%)			
Korea	25(10.8%)	145(62.5%)	62(26.7%)			
US	31(35.2%)	45(51.1%)	12(13.6%)			

df=degree of freedom

Attachment 1.

**一般用医薬品（漢方薬・伝統医薬品を含む）やサプリメントについての意識調査
（日本語版）**

以下の質問のうち、該当するものに○をつけてください。

年齢： 1. ～14 2. 15～20 3. 21～30 4. 31～40
 5. 41～50 6. 51～60 7. 61～70 8. 71～

性別： 1. 女性 2. 男性

民族： 1. Asian, 2. Black or African American, 3. White, 4. Indian (Asian Indian or
American Indian), 5. Hispanic or Latino, 6. Others

Q1. これまでに、伝統医薬品（漢方薬など）を服用したことがありますか？

1. はい。現在服用している。
2. はい。以前に服用していた。
3. いいえ。これまで一度も服用したことがない。→服用してみたいと思いますか？ A. はい B. いいえ

Q2. これまでに、サプリメントを服用したことがありますか？

1. はい。現在服用している。
2. はい。以前に服用していた。
3. いいえ。これまで一度も服用したことがない

Q3. 伝統医薬品（漢方薬など）、健康食品、サプリメントの違いを知っていますか？

1. はい 2. いいえ 3. わからない

Q4. サプリメント食品、伝統医薬品のどちらを信頼していますか？

1. 食品 2. 伝統医薬品 3. わからない

Q5. あなたが理想的で健康的な生活が送れていない場合、サプリメントや健康食品が自身の健康を改善すると思いますか？

1. 正 2. 誤 3. わからない

Q6. サプリメントや健康食品は安全ですか？

1. 正 2. 誤 3. わからない

Q7. すべての医薬品は副作用を有する

1. 正 2. 誤 3. わからない

Q8. 医薬品は服用方法を守らないと、効果を発揮しない

1. 正 2. 誤 3. わからない

Q9. 主治医から長期にわたり、医薬品の継続服用を指示されても、副作用が気になるため、時々服用しないことがある

1. 服用しないことがある 2. 指示通り服用する

Q10. 医療用医薬品と一般用(OTC)医薬品の違いをしっていますか？（有効成分の種類やその量の違いなど）

1. はい 2. いいえ 3. わからない

Q11. 医薬品の情報について、医師、薬剤師のどちらがより知っていると思いますか？

1. 医師 2. 薬剤師 3. わからない

Q12. 医薬品の副作用の程度や頻度は、服用方法に依存している

1. 正 2. 誤 3. わからない

Q13. あなたは薬剤師のいない店舗（コンビニエンスストアなど）で、一般用医薬品(OTC薬)を購入する際、不安を感じますか？

1. はい 2. いいえ 3. わからない

Q14. 医薬品は、長期間服用した時のみに副作用が発現する

1. 正 2. 誤 3. わからない

Q15. これまで、インターネットにより医薬品やサプリメントを購入したことがありますか？

1. はい 2. いいえ 3. わからない

Q16. 国外で販売されている伝統医薬品（生薬製剤、中成薬など）は安全である

1. 正 2. 誤 3. わからない

Q17. 医薬品の個人輸入により健康被害が起こった場合、自己責任となり、そのような健康

被害に対して、あなたが加入している保険ではカバーされない。

1. 正 2. 誤 3. わからない

Q18. 生薬（天然の植物、動物、鉱物）の効果は基源生物・材料の品質に依存している

1. 正 2. 誤 3. わからない

Q19. 伝統医薬品の効果は緩やかである

1. 正 2. 誤 3. わからない

Q20. 通常の食品と健康食品のどちらかを摂取する場合、あなたはどちらを選びますか

1. 通常の食品 2. 健康食品 3. わからない

Q21. 伝統医薬品（漢方薬など）やサプリメントに関するご質問、ならびにお考え・体験談を教えてください。

Attachment 2

Questionnaire on opinions toward medication and health supplements (English version)

Please respond to the following questions.

Age: 1. ~14 2. 15~20 3. 21~30 4. 31~40
 5. 41~50 6. 51~60 7. 61~70 8. 71~

Gender: 1. Female 2. Male

Race 1. Asian 2. Black or African American 3. White
 4. Indian(Asian Indian or American Indian) 5. Hispanic or Latino
 6. Others

Q1. Have you ever used any Chinese herbal medicine?

- 4. Yes, I am using them now.
- 5. Yes, I have used them before.
- 6. No, I have never used them. → Do you want to try them? A. Yes B. No

Q2. Have you ever used any supplements?

- 1. Yes, I am using them now.
- 2. Yes, I have used them before.
- 3. No, I have never used them.

Q3. Do you know the difference between Chinese herbal medicines, healthy foods and supplements?

- 1. Yes 2. No 3. Not sure

Q4. What do you believe? Are supplements food or medicine?

- 1. Food 2. Medicine 3. Not sure

Q5. If you do not have an ideal healthy life style, do you believe that supplements and health foods will improve your health?

- 1. True 2. False 3. Not sure

Q6. Are supplements and health foods safe?

- 1. True 2. False 3. Not sure

Q7. All medicines have adverse side effects.

1. True 2. False 3. Not sure

Q8. Medicines do not work well, if you do not follow instructions.

1. True 2. False 3. Not sure

Q9. When my doctor tells me to continue a medication chronically, sometimes I do not comply because I am worried about its adverse side effects.

1. Me, neither. 2. I take it as directed.

Q10. Do you recognize that there are differences between prescription drugs and nonprescription drugs? (Ex. Identity and amount of effective ingredient.)

1. Yes 2. No 3. Not sure

Q11. Who do you think knows more about drugs, doctors or pharmacists?

1. Doctor 2. Pharmacist 3. Not sure

Q12. The effectiveness and the frequency of adverse side effects of a medication depend on the dosing schedule.

1. True 2. False 3. Not sure

Q13. Do you feel anxious when you buy over-the-counter drugs from a store lacking a pharmacist? (Ex. The convenience store)

1. Yes 2. No 3. Not sure

Q14. Medications produce adverse side effects only when administered chronically.

1. True 2. False 3. Not sure

Q15. Have you ever bought a medicine or supplement via the internet?

1. Yes 2. No 3. Not sure

Q16. Drugs, including traditional herbal medicine, Chinese herbal medicine and crude drugs, purchased from foreign countries, are safe.

1. True 2. False 3. Not sure

Q17. If a medication, which is imported by an individual, causes a health problem, the person should take full responsibility for his actions. His insurance company is not responsible for his health problem.

1. True 2. False 3. Not sure

Q18. The effectiveness of crude drugs (natural plants, animals and minerals) depends on the quality of the material.

1. True 2. False 3. Not sure

Q19. Chinese herbal medicines have a slow onset of action.

1. True 2. False 3. Not sure

Q20. If you had a choice of consuming an average or normal U.S. diet and a diet rich in health foods, what would be your choice?

1. U.S. diet 2. Health food diet 3. Not sure

Q21. If you have any questions or opinions regarding any medications or supplement, please write them down.

第二節 生薬製剤治療におけるエビデンスの現状

生薬製剤におけるエビデンスの現状及びその課題を検証するため、国内外論文調査を行った。

【方法】

2011 年 7 月時点で PubMed にて公表されている国内外論文を対象に RCT 報告数集計、及び論文、抄録のレビューにより、エビデンスの量的・質的両面から評価した。

PubMed 検索条件：

「randomized controlled trial」にて RCT 報告を抽出後、Publication type 「clinical trial」を抽出し、且つ「Review」を除外した。更に、生薬製剤関連の以下の用語を用いて「OR」検索を行い、生薬製剤に関する RCT 報告を抽出した。

- ・ Kampo medicine (therapy)
- ・ (traditional) Chinese herbal medicine (therapy)
- ・ Chinese herbs
- ・ Chinese medicinal plants
- ・ Herbal medicine

国内論文については更に以下の日本東洋医学会（EBM 特別委員会）が作成した「漢方治療エビデンスレポート」^{26,27}についてエビデンスを調査した。

エビデンスの質的評価については、対象期間について PubMed から抽出された生薬製剤に関する RCT や、生薬製剤に関するエビデンスを論じた Review article（総説）を基に一次評価を行った後、適宜、オリジナルの論文レビューによる二次評価を行った。

国内論文については、「漢方治療エビデンスレポート」^{26,27}の構造化抄録を基に一次評価を行った後、適宜、オリジナルの論文レビューによる二次評価を行った。

【結果】

1. エビデンスの量的評価

PubMed から国内外論文として RCT 報告数集計を実施した結果、RCT 報告は合計 31 万 7,999 件抽出され、そのうち二重盲検試験は 87,555 件と全体の 27.5%を占めていた。更に生薬関連用語を条件に加えて論文検索を実施した結果、生薬製剤に関する RCT 1,279 件を抽出でき、全 RCT 報告数に占める生薬製剤に関する RCT 報告数は 0.4%と、ごくわずかであることを示した。なお、生薬製剤に関する RCT 報告 1,279 件中、二重盲検試験は 263 件と全体の 20.6%を占めていた (Table7)。

また、論文に使用されている報告言語を調べた結果、英語による報告は 43.0% (550 件/1,279 件)と半数以上が Local 言語による報告であり、中国語による報告が全体の 56.2%(719 件/1,279 件)と大多数を占めた (Table 8)。

次に、生薬製剤に関する RCT 報告数の経時的変化を調査した結果、1983 年より報告がなされ、その後経時的に増加傾向を示し、特に 2000 年以降の急増が認められた。しかし、2006 年に 99 件と減少後、再度 120-135 件と上昇したものの、2010 年には 96 件と減少を示し、2006 年から 2010 年の間に増加傾向の抑制が認められた (Figure 1-a)。

生薬製剤に関する RCT 報告数に占める、中国からの報告が 78.6% (1005 件/1,279 件)と大多数を占め、日本からの報告が 5.9% (76 件/1,279 件)とごくわずかであった。中国、日本以外の報告は 15.5% (198 件/1,279 件)であり、北米 (米国、カナダ)、ヨーロッパ (UK、ドイツ、スイス)、中東 (イラク)、アジア (インド、韓国、台湾、シンガポール) からの報告が見受けられた (Figure 1-b)。

漢方製剤は日本において発展した独自の治療体系であるが、PubMed により抽出できた国内からの RCT 報告数はごくわずかであった。そこで PubMed では抽出されない他のデータソースの調査を行うこととした。国内については日本東洋医学会で EBM 特別委員会が 2001

年に設立され、積極的に漢方製剤治療の EBM 推進に取り組んでいる。EBM 特別委員会は Cochrane Library (CENTRAL)、医学中央雑誌 (医中誌 Web)、日本漢方生薬製剤協会提供のデータベースと、3 つのデータベースを用いて網羅的に RCT 収集を行っている。1986 年以降の公表論文を対象に、日本で漢方処方として製造販売承認を受けている漢方製剤 (エキス剤および丸剤) の RCT 報告について、構造化抄録を作成し、第三者の専門家の評価を経て考察をまとめ、その結果を「漢方治療エビデンスレポート」^{26,27} として公開している。

漢方治療エビデンスレポート^{27,28}によると、国内ではこれまでに合計 360 件の RCT またはメタアナリシスが特定され、二重盲検試験は 35 件 (9.7%) であった^{26,27}。また、主な疾患領域として消化管・肝胆膵系、呼吸器系、泌尿器系、癌領域が他疾患領域と比べて報告数が高かったことを示した (Table 9)。また、360 報告中 182 件が 2000 年以前、178 件が 2000 年以降と、2000 年以前から積極的な RCT 実施が報告されていることを示した。更に、報告言語を調べた結果、日本語論文が 79.2%、英語論文が 20.8%と、大多数が日本語による報告であることを示した (Table 10)。

2. エビデンスの質的評価

生薬製剤に関する RCT に関する複数の総説²⁸⁻³⁷に基づいて調査した結果、生薬製剤に関する RCT において、エビデンス不足の原因としてよく認められたのは以下の点であった。

- ・ 症例数の不足
- ・ 使用薬剤の規格に関する情報不足
- ・ 無作為化が不十分
- ・ 盲検化が不十分 (プラセボの識別不能性不十分)
- ・ 患者背景の偏り
- ・ 副作用に関する情報がない
- ・ 生薬製剤の短期的評価のみで、中長期に亘る影響を観察していない

- ・ 不適切な統計解析方法
- ・ 解析結果に基づかない解釈

国内論文については、更に漢方治療エビデンスレポート^{26,27}に基づき、詳細を検討した。国内においても上述とほぼ同様の傾向を示したが、「使用薬剤の規格に関する情報不足」については国内での指摘はごくわずかであった。

国内外での数値比較はしていないが、症例数について国外と比べて国内 RCT では症例数が更に小規模である傾向が認められたため、生薬製剤に関する国内 RCT360 報告について、1 試験あたりの症例数を調査した。その結果、300 例以上の大規模試験は 9 試験 (2.5%) とごくわずかであり、20 例以上 50 例未満の症例数の試験が 114 件 (31.8%) と最も多く認められた (Table 11)。

Table 7 No. of publications related RCTs

	No. of publications (%)
Total No. of RCTs	317,999 (100%)
Total No. of DB-RCTs	87,555 (27.5%)
Total No. of RCTs in herbal medicine	1,279 (0.4%)
Total No. of DB-RCTs in herbal medicine	263 (0.08%)

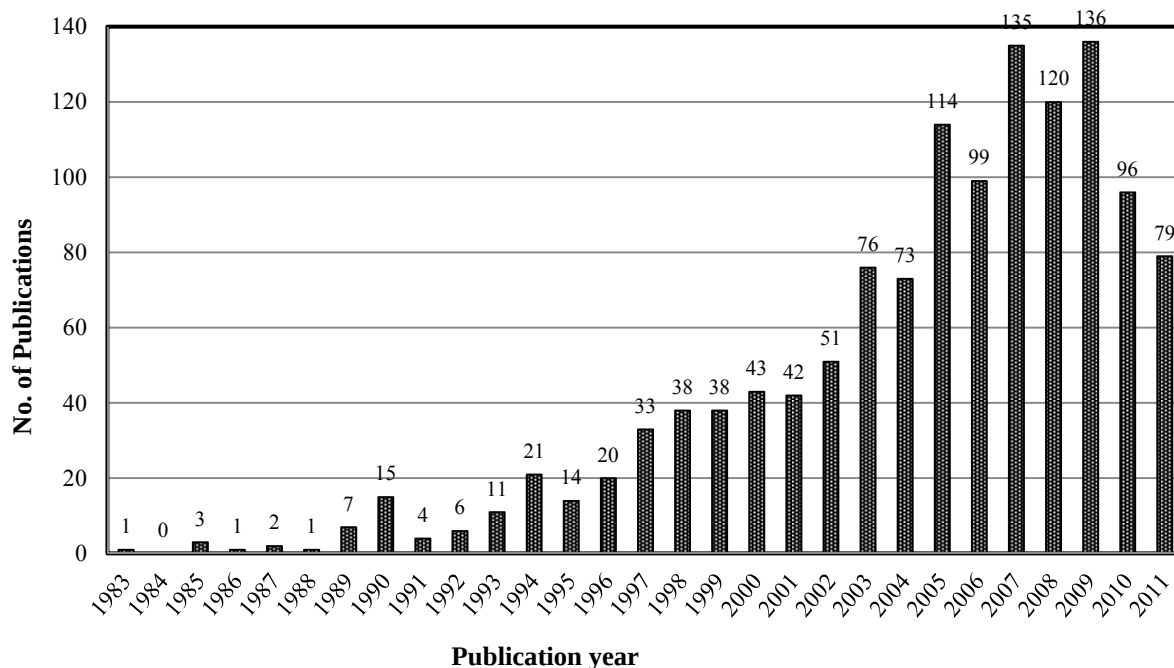
Data shows the total number of publications related RCTs and RCTs in herbal medicine, data available as of July 2011 was obtained by PubMed.

Table 8 No. of publications of RCTs for herbal medicine in local language

Language	No. of publications (%)
English	550 (43.0%)
Chinese	719 (56.2%)
Japanese	6 (0.5%)
Other	4 (0.3%)
Total	1279 (100.0%)

Data shows the total number of publications related RCTs in herbal medicine, data available as of July 2011 was obtained by PubMed.

(a) No. of publications related RCTs by publication year



(b) No. of publications related RCTs by country

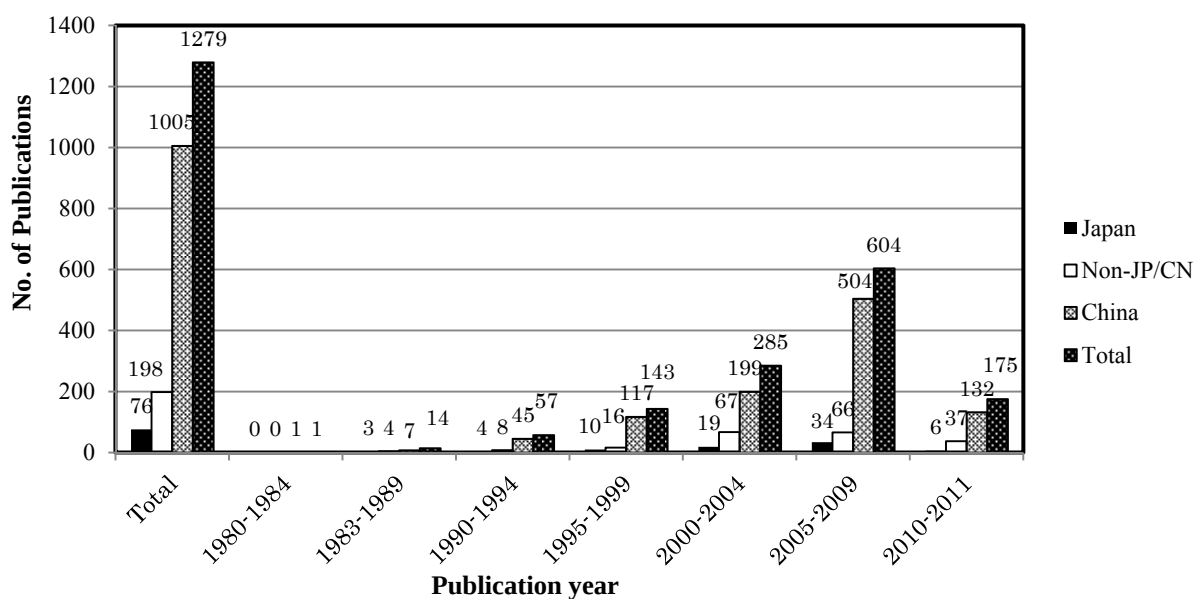


Figure 1 No. of publications related to RCTs in herbal medicine

(a) shows the total number of publications related RCTs by publication year.

(b) shows the total number of publications related RCTs by country in each 5 year. Black bar with white dot indicates the total number of publication related RCTs. Black, white and gray bar indicate the total number of publication related to RCTs reported by Japan, other countries, and China, respectively. Data available as of July 2011 was obtained by PubMed.

Table 9 RCTs by disease in Kampo medicine(Japan)

Disease Category	No. of reports		Total No.	
	1986-1999	2000-2011	in 1986-2011 (%) ^a	
Infections	15	3	18	(5%)
Cancer	20	11	31	(8.6%)
Blood Diseases including Anaemia	9	6	15	(4.2%)
Metabolism and Endocrine Diseases	5	6	11	(3.1%)
Psychiatric/Behavioral Disorders	5	8	13	(3.6%)
Nervous System Diseases	4	9	13	(3.6%)
Eye Diseases	0	4	4	(1.1%)
Ear Diseases	3	2	5	(1.4%)
Cardiovascular Diseases	7	8	15	(4.2%)
Respiratory Diseases	14	30	44	(12.2%)
Gastrointestinal, Hepato-Biliary-Pancreatic Diseases	32	25	57	(15.8%)
Skin Diseases	12	3	15	(4.2%)
Diseases of the musculoskeletal system and connective tissue	10	9	19	(5.3%)
Genitourinary Tract Disorders	19	15	34	(9.4%)
Ante/Post-partum Diseases	1	9	10	(2.8%)
Symptoms and Signs	10	12	22	(6.1%)
Post-anesthesia and Postoperative Pain	2	0	2	(0.5%)
Ante/Post-partum Diseases :Meta Analysis	1	0	1	(0.3%)
Extrinsic Injuries/Diseases	0	1	1	(0.3%)
Others	13	17	30	(8.3%)
Total	182	178	360	(100%)

Modified from Evidence Reports of Kampo Treatment^{26,27}

The number of structured abstracts for RCT is shown by disease.

a The number in parentheses indicates the percentage of structured abstracts by disease in total 360 ones

Table 10 No. of publications of RCTs for herbal medicine in local language(Japan)

Language	No. of publications	(%)
English	75	(20.8%)
Japanese	285	(79.2%)
Total	360	(100%)

Modified from Evidence Reports of Kampo Treatment^{26,27}

Table 11 No. of subjects enrolled per study(Japan)

No. of subjects enrolled per study	No. of RCTs	(%)
<10	15	(4.2%)
10-19	45	(12.5%)
20-49	114	(31.8%)
50-99	89	(24.8%)
100-199	59	(16.4%)
200-299	28	(7.8%)
300<	9	(2.5%)

Modified from Evidence Reports of Kampo Treatment^{26,27}
N=359. One meta-analysis was excluded from this table.

第三節 生薬製剤治療における QOL 評価の有用性

種々の自覚症状があり、QOL の低下が認められるが、検査上異常がないことから、西洋医学上では病気ではないため、治療対象にされず放置されてきた歴史がある。1980 年代以降、西洋医学において QOL の重要性が認知されるようになり、それに伴って近年では「未病」患者における QOL 向上の重要性も認知され、未病対策のための QOL 向上は今後益々重要な課題であると考ええる。

身体所見や検査値データ等の客観的データ上の異常が認められずとも、患者の主観に基づいた治療を目標とする QOL 向上は、東洋医学における未病治療の考え方と非常に類似しており、我々は QOL 評価が西洋医学と東洋医学の融合の起点となりうる可能性に着目した。

西洋医学において発展してきた QOL の分野では、種々の QOL 評価尺度が開発されており、標準化された QOL 評価尺度の使用が重要であるとされている。汎用される QOL 評価尺度は大きく分類して、効用値尺度（選好に基づく尺度）とプロファイル型尺度から成り、更にプロファイル型尺度は包括的尺度と疾患特異的尺度に分けられる（Table12）。

Table 12 汎用される QOL 評価尺度

分類	評価尺度名	適した応用
効用値尺度 (選好に基づく尺度)	EQ-5D、HUI、SF-6D	医療経済研究
プロファイル型尺度		
包括的尺度	SF-36、HADS、SIP、 NHP、WHOQOL	臨床研究・疫学研究
疾患特異的尺度	KDQOL、RDQ、DLQI	臨床研究・臨床試験

Takegami, 2009³⁸ より抜粋

EQ-5D: EuroQOL 5D、HUI: Health Utilities Index、SF-6D: Short-Form-6Dimensions

SF-36: Short-Form-36 Health Survey、HADS: Hospital anxiety and depression scale、SIP: Sickness Impact Profile、NHP: Nottingham Health Profile、WHOQOL: The World Health Organization Quality of Life

KDQOL: Kidney Disease Quality of Life、RDQ: Roland-Morris Disability Questionnaire、DLQI: Dermatology Life Quality Index、

効用値尺度（選好に基づく尺度）は QOL を一次元の概念（最悪値が 0、最良値が 1 など）

として測定し、単一の指標から成る。効用値尺度として代表的なEQ-5Dは、5項目（移動の程度、身の回りの管理、ふだんの生活、痛み・不快感、不安・ふさぎ込み）を3段階で評価する質問表により構成されている。回答の組み合わせがスコア化（効用値）され、最も悪い健康状態（0点）から最も良い健康状態（100点）として評価する^{39,40}。

包括的尺度は健康や日常・社会生活機能の変化を量的に測定し、また健康者から患者まで共通の指標を用いて評価ができる特徴がある。SF-36は包括的尺度の一つで、36項目の健康に関する質問項目から成り、8つの下位尺度（①身体機能、②日常役割機能：身体、③身体の痛み、④社会生活機能、⑤全体的健康感、⑥活力、⑦日常役割機能：精神、⑧心の健康）と2つのサマリースコア（身体的健康、精神的健康）で構成される。回答は数値化され、アルゴリズムにより変換値を得て、0から100点でスコア化される^{41,42}。

疾患特異的評価尺度は、特定の疾患を対象としてその症状による健康度や日常生活機能への影響を測定する尺度で感度が高い一方、他の疾患患者との比較ができない特徴がある。DLQIは皮膚疾患による生活への影響度を測る評価尺度で10項目の質問、6つの下位尺度（①症状・感情、②日常活動、③レジャー、④仕事・学校、⑤人間関係、⑥治療）から構成される。それぞれの下位尺度と総合得点（1-30点）を求めることができ、スコアの高いほど、QOLの障害を示す^{43,44}。

これら評価尺度は基本的に自己記入式であるが、電話聞き取りや、インタビュー形式が可能な場合もある。調査対象者の不安や調査側の介入が回答に影響を与えるため、不安を取り除く環境作りと、説明の際には質問に対する調査側の解釈を一切交えないことがバイアス除去には重要である。

QOL評価尺度の選択はそのエビデンスレベルに大きく影響を与えるものであり、慎重な選択が求められる。そこで生薬製剤におけるQOL評価実施について国内外のエビデンスを調査し現状を分析した。

【方法】

2011 年 7 月時点で PubMed にて公表されている国内外論文を対象に、QOL 評価がエンドポイントとして含まれている RCT 試験について、その報告数集計、及び論文、抄録のレビューにより、エビデンスの量的・質的両面から評価した。

PubMed 検索条件：

「randomized controlled trial」にて RCT 報告を抽出後、「QOL」と AND 検索、更に Publication type 「clinical trial」を抽出し、且つ「Review」を除外した。更に、生薬製剤関連の用語を用いて「OR」検索を行い、QOL 評価を行った生薬製剤に関する RCT 報告を抽出した。

国内論文については更に前節同様、日本東洋医学会（EBM 特別委員会）が作成した「漢方治療エビデンスレポート」^{26,27}についてエビデンスを調査した。

【結果】

1. エビデンスの量的評価

QOL 評価を何らかの実施している RCT 報告として、PubMed から 1,789 報告抽出し、全 RCT 数の 0.6%であることを示した。更に生薬製剤について検討している報告を抽出した結果、合計 40 件と、QOL 評価を実施している全 RCT 数の 2.2%（40 件/1,789）と、ごくわずかなであることを示した（Table 13）。また、40 件のうち 39 件は 2000 年以降の報告であった（Figure 2-a）。「漢方治療エビデンスレポート」^{26,27}からは 360 件中 21 件（5.8%）の QOL 評価を実施した国内の RCT 報告が抽出され、21 件中 17 件は 2000 年以降の報告と、国内外共に 2000 年以降の増加が顕著であった（Figure 2-b）。

なお、前節で示した RCT 報告と同様、PubMed から抽出した 40 件中 31 件と、中国からの報告が大多数を占めた。

2. エビデンスの質的评价

PubMed で抽出された QOL 評価を実施している RCT に関して、使用されている QOL 評価尺度は Table 12 で示した信頼性・妥当性の検証された包括的尺度の SF-36 や疾患特異的尺度が主に用いられていた。

「漢方治療エビデンスレポート」^{26,27} で特定された国内 RCT についても、包括的尺度として汎用されている SF-36 や、疾患特異的尺度等、信頼性・妥当性が検証されている QOL 評価尺度が使用されていた一方で、研究者自らが開発した QOL 評価尺度も含まれていた。

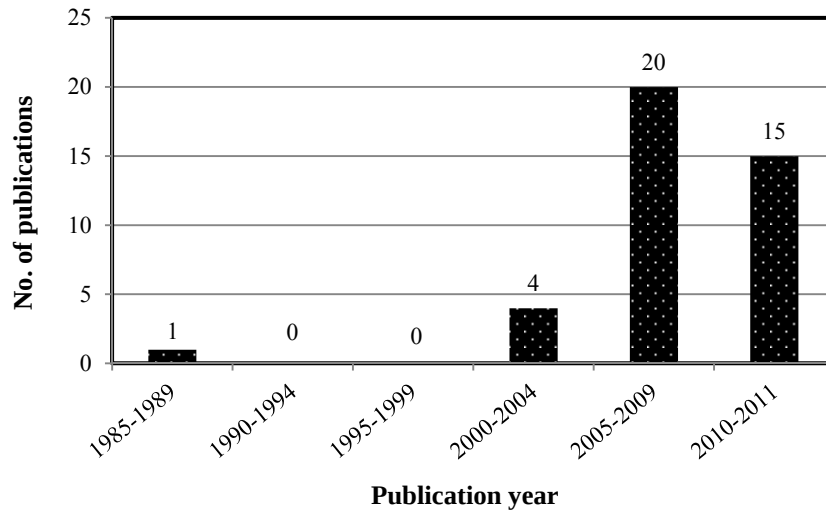
「漢方治療エビデンスレポート」で QOL 評価を実施している RCT 21 件告のうち、7 件は同一著者からの報告であり、その著者らが自己開発した QOL アンケート調査表を使用しており、その信頼性・妥当性に関する公開情報が乏しいことから、エビデンスレベルの検証が困難であった。

Table 13 No. of publications of RCTs including QOL assessment

	No. of publications	(%)
Total No. of RCTs	317,999	(100%)
Total No. of RCTs including QOL assessment	1,789	(0.6%)
Total No. of RCTs in herbal medicine	1,279	(0.4%)
Total No. of RCTs including QOL assessment in herbal medicine	40	(0.01%)

Data shows the total number of publications related RCTs, and RCTs in herbal medicine including QOL assessment, data available as of July 2011 was obtained by PubMed.

(a) No. of publications of RCTs including QOL assessment in PubMed



(b) No. of publications of RCTs including QOL assessment in Evidence Reports of Kampo Treatment

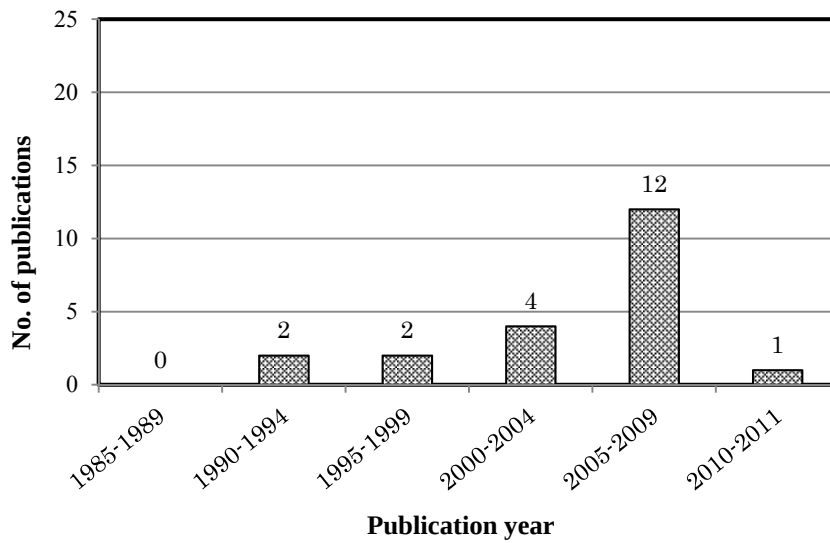


Figure 2 No. of publications of RCTs including QOL assessment in herbal medicine

(a) shows the total number of publications of RCTs including QOL assessment in PubMed.

(b) shows the total number of publications of RCTs including QOL assessment. Data available as of July 2011 was obtained by PubMed(a) and Evidence Reports of Kampo Treatment^{26,27} (b).

第四節 考察及び小括

セルフメディケーションに関する使用経験の調査結果から、伝統薬やサプリメントは東アジア地域で広く使用されていることが示唆された。一方で医薬品やサプリメントのインターネットによる購入経験は米国、東アジア各国いずれも、購入経験者と比べて経験者数は低かった。近年急速に発展しているインターネットであるが、医薬品やサプリメントの購入に関しては、安全性やセキュリティの面等不安要素が歯止めになっていると考えられる。しかしながら、近年のネット文化を考慮すると、今後の拡大は十分に予想されるものであり、注意を払う必要があると考える。

認識・意識面の調査の結果、米国では「サプリメントや健康食品は安全である」、中国では「伝統薬の作用が緩徐である」と認識している傾向が他国より高く、認識の偏りが認められた。医薬品の副作用や効果発現に関して、いずれの国でも一般的な知識レベルに大きな乖離は認められなかった一方で、医師からの処方指示へのコンプライアンスに乖離が認められたことから、米国はアジア各国と比べて処方指示への信頼度が高い、あるいは医薬品に対する不安感がアジア各国で強い傾向が示唆された。

セルフメディケーションに関して、国によって使用経験や意識に違いがあり、各国の医療制度や文化・習慣等による影響が考えられる。特に、生薬製剤・医薬品定義の理解度が各国と類似しているものの、服用コンプライアンスに顕著な違いが見られたことから、科学的なエビデンスがないままに、慣習的な使用や非専門的自己判断による使用がなされているリスクが危惧される。

科学的エビデンスの蓄積に加え、医療の現場において副作用や有効性に関する適切な情報提供の充実化が患者の不安を取り除く一つの打開策になると考えられる。本結果は医薬品やサプリメント、伝統薬の今後の適正使用に関する科学的エビデンスの現状、情報提供、認知度向上の活動に対して、対応すべき点を示唆するものとする。

更に我々は相補・代替医療の科学的エビデンスの現状を調査するため、相補・代替医療

において重要な役割を担う生薬製剤を対象に現状調査を行った。その結果、生薬製剤に関する RCT 実施数が増え、海外では特に 2000 年以降に RCT によるエビデンス構築が進んできたことを示した。この RCT 実施増加の背景には、天然物などの複合化合物を医薬品 (Botanical drug) として認可する動きが米国で加速している背景も影響している可能性が考えられる。米国の承認申請に関する規制上、それまでは単一で純粋な物質を新薬の候補として想定して作られていた。しかし相補・代替医療の隆盛に伴い、米国はたとえ未解明の成分が含まれる多成分系の複合化合物であっても、有効性と安全性が確認できれば、承認可能とする方針を 2000 年に打ち出し⁴⁵、既に複数の生薬製剤が承認されている (FDA のガイダンスは 2000 年に Draft として公開後、2004 年に発効となった)。生薬製剤に関する RCT 数について、2005 年以降に増加傾向の抑制が認められたが、EBM 理論の推進に伴い、RCT に期待される質の高い臨床試験デザインがより明確に定義され始めた²⁸ ことで、歯止めがかかったものと考えられる。二重盲検試験は全体の 10%から 20%程度と少ないが、パイロット目的の試験実施が多かったと推測され、また匂・味・色が独特なために、識別不能なプラセボ開発が困難であることも影響している可能性が考えられた。生薬製剤におけるエビデンスの量的な増加は認められるものの、全 RCT の 0.4%程度とごくわずかで不足は否めない。また、RCT 論文報告言語は英語が 43.0%で、過半数が中国語であることから、国際的な利用価値は乏しい。日本国内で 2000 年以前から積極的な RCT 実施が行われているが、大多数が日本語による報告で、その大半は PubMed による抽出ができず、中国以上に著しく国際的な利用価値が乏しいと言わざるを得ない。質的な面では 2000 年以降は試験デザインの質の向上が認められた。生薬製剤は個々の証に応じて処方される独特の治療体系を有しており、同一処方の患者の大規模な組み入れは困難とされるが、少ない症例数で検証可能なデザインを取り入れ、一人の患者で薬剤投与前後を比較する試験の報告もあり⁴⁶、研究者らの工夫がなされている。しかしながら症例数不足や患者背景の偏り、不適切な無作為化や盲検化、不適切な統計解析等、問題点が認められる RCT も多く報告され、種々の課題が

残ることが明らかとなった。特に症例数は疾患、有効性評価項目、試験毎に設定されるべきもので一概に何例以上必要と決められるものではないが、1 試験あたり 100 例以上の試験が日本国内では 26.7%、50 例以上でも 51.5%と、症例数の少なさが顕著であった。

日本の現代医学は西洋医学が主流であり、漢方製剤の利点を更に定着させていくためには、国際的に認知された学術論文としてエビデンスを証明していくことが重要である。RCT 実施経験もまだ少なく、パイロット目的の試験実施が多かったものと推測されるが、特に有効性が示唆された対象疾患に関しては今後の大規模検証試験実施が期待される。漢方製剤の品質の高さ、有効性、安全性は海外からも期待が高まっており、大建中湯は米国でその有効性が報告されてきた^{47,48}。漢方製剤の国外への更なる発展へ向けて、国際的な利用価値のあるエビデンス構築を日本の医師に期待する。

エビデンスの質の高さから RCT が最も優れていることは周知の事実だが、その一方で近代西洋医学の医薬品の EBM で広く使用される RCT だけでは、生薬製剤や相補・代替医療の分野ではエビデンス構築に限界があることも討議され始めている。生薬製剤治療を含む相補・代替医療では EBM 理論の限界を補う形で「ベストケース」という概念が発展してきた。2000 年のミュンヘンでの国際会議、更に日本国内でも症例報告や症例集積研究には臨床試験では知ることができない、稀で且つ臨床的に意義のあるエビデンスが得られることも否定できないと議論されている⁴⁹。「ベストケース」の概念は、並外れた良い、あるいは逆に悪い結果が得られた症例の背景を詳細に記録し、叙述的な内容も含めて、効果に寄与した可能性のある全ての背景情報を探索的に検討することからエビデンスを見いだそうとするものである⁵⁰。今後、生薬製剤の有効性及び安全性を更に検証するために、広く情報共有を図り、RCT 実施、及びベストケースの集積を行い、西洋東洋医学両面からエビデンス構築へ向けて協働・発展していくことが期待される。

更に我々は QOL の進展状況も調査を行った。生薬製剤を用いた RCT での QOL 評価実施数はごくわずかと限られていた。使用された QOL 評価尺度には研究者自らが開発し、信頼

性・妥当性の検証が明らかでない尺度も含まれていた。QOL 評価尺度の選択時には次の 10 項目を留意することが Medical Outcomes Trust⁵¹、竹上ら³⁸により提唱されている。1) 測定尺度の概念モデルの有無、2) 回答者の負担の程度、3) 信頼性、再現性の検証の有無、4) 妥当性検証の有無、5) 標準化の有無、6) 測定精度の高さ、7) 測定範囲が回答データ分布に適しているか、8) 反応性の高さ、9) 翻訳版の表現が各国間（各文化間）で調整されているか、10) 得られた結果解釈のための基礎データの充実度

これらの要件が考慮された適切な QOL 評価尺度を選択することが QOL 評価のエビデンスを向上させる上で重要だが、生薬製剤の分野で QOL 評価のエビデンスは十分とは言えない。その背景として、QOL 評価の有用性の高さが十分に認知されていないことや、対象とする患者層に適切な QOL 評価尺度の選択の難しさも一因となっている可能性も考えられる。医薬学において QOL 教育は積極的に行われていない現状を考慮すると、今後の QOL に関する教育の充実化、QOL 理論の定着が期待される。また QOL 評価が特に日本等アジアでの浸透を阻む大きな原因として、QOL 評価は有意差を出すには大規模な症例確保が求められることである。しかしながら米国と比べて東アジアで大規模な症例確保は一施設では困難な場合が多く、多施設共同試験が必要となることが原因と考えられる。QOL 評価は新薬の承認申請においても重要性が増しており、今後の多施設共同試験実施の基盤構築が期待される。

以上、本研究ではテラーメイド医療の提供を進める統合医療推進のために、セルフメディケーションの推進が重要であることからその現状を調査した。伝統薬やサプリメントの普及率は高く、セルフメディケーションの実践が進んでいることが示されたが、東アジアで医薬品全般に対する不安感が米国と比較して強い。科学的なエビデンスがないままに、慣習的な使用や非専門的自己判断による使用がなされている現状とリスクを示した。更にテラーメイド医療において重要な役割を担う生薬製剤治療の臨床評価に関する有用な科学的エビデンスについて向上が認められるも、未だ乏しい現状を明らかにした。

第二章 生薬製剤の薬物相互作用評価系モデル構築

第一章では生薬製剤の臨床評価の現状を調査し、エビデンス構築へ向けて課題を提起した。EBM の概念においてエビデンスとは臨床成績に基づいた知見を表している。我々薬学の立場から、大規模な臨床試験成績収集へ直接的に寄与することは困難であるが、薬学の観点から *in vivo*、*in vitro* データから医薬品に関する臨床現場で有用な知見を情報提供していくことは重要であると考える。

天然の複合成分からなる生薬製剤を対象とした評価モデルでは、通常の間口医薬品開発時の評価対象外である水溶性の高い薬物（成分）をターゲットにして、*in vivo* の事象を *in vitro* へ外挿可能な吸収・代謝評価モデルが有用である。

近年、 $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ を添加することによって、Caco-2 細胞の CYP3A4 活性が誘導されることが報告され⁵²、我々は CYP3A4 への影響を活性や mRNA レベルで検討できることを検討してきた^{53,54}。今回、腸内環境を反映させるべく、更なるモデル開発を行い、Herb-drug 相互作用スクリーニングや作用機序解明に有用な簡便な評価モデル構築を目的とした。

我々は CYP3A4 を高発現した Caco-2 細胞株を入手し、 $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ 処理で CYP3A4 活性測定ができる細胞を調製後、腸内環境を反映するためにラットの腸洗浄液を用いた。以下、Figure 3 に本評価モデルの概念図を示す。

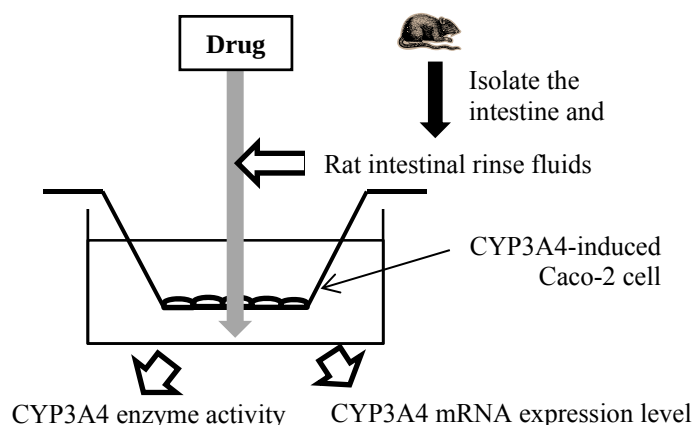


Figure 3 Diagram of *in vitro* model to evaluate herb-drug interaction
CYP3A4-induced Caco-2 cell monolayers combined with rat intestinal

本評価モデルに用いるモデル薬剤として、植物性医薬品成分として情報量の多いフラボノイドのバイカリン（以下 BG）を選択した。BG は黄ゴン（*Scutellariae Radix*）の指標成分であり、漢方薬や中薬の主要生薬材料にも高濃度に含有されており、抗炎症作用等、種々の薬理作用がこれまでに報告されている⁵⁵⁻⁵⁷。

バイカリンは配糖体のため水溶性が高く、生体内で腸内細菌の *Streptococcus* 属と *E.coli* の β -グルクロニダーゼによりアグリコンのバイカレイン（以下、B）へ代謝されることが知られている⁵⁸。BG 及び B の化学構造式を Figure 4 に示した。BG は配糖体であり、水溶性が高いため、吸収率が低くその特徴は細胞系でも確認されている⁵⁹。しかしラットに BG を服用させると血中で検出されることから、BG は腸内細菌に由来する β -グルクロニダーゼにより、まず脂溶性の高いアグリコンの B に変換され、小腸上皮細胞へ吸収される。その後、細胞内で再び UDGP-グルクロニルトランスフェラーゼ（UGT）で抱合を受けて BG に変換され、血中に移行すると考えられている⁶⁰⁻⁶²（Figure 5）。

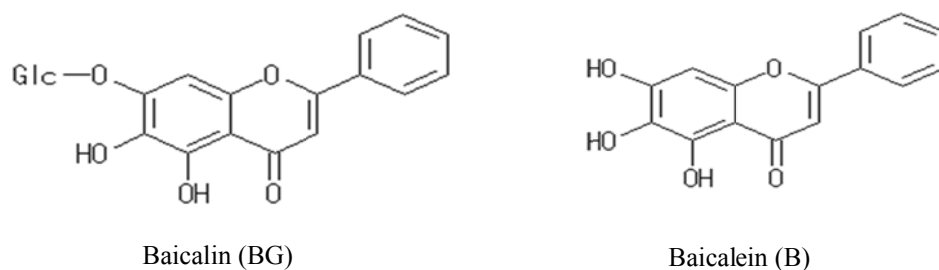


Figure 4 Structure of baicalin and baicalein

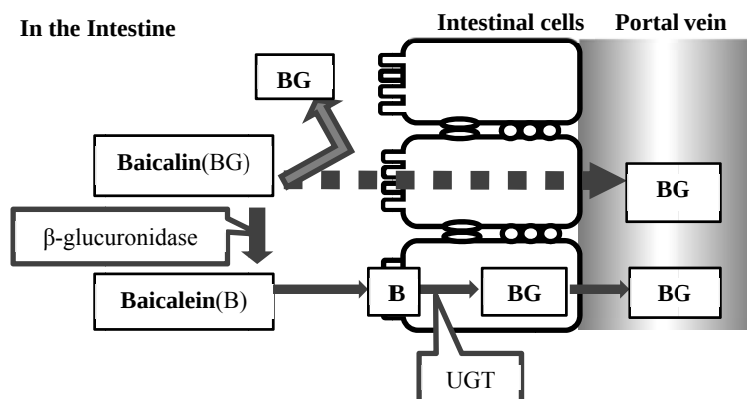


Figure 5 Pharmacokinetics profile of baicaline

第一節 バイカリン連日経口投与によるラット小腸 CYP 酵素活性及びタンパク発現量へ及ぼす影響

腸での吸収・代謝は薬物動態相互作用における重要な因子とされるが、これまでに、ラットへ BG 連続経口投与後の小腸 CYP3A への影響についての検討はなされていない。

ラットにバイカリン (BG) を連日経口投与した際の、小腸 CYP3A 酵素活性及びタンパク発現量を検討した。

【方法】

1. 動物

7 週齢の Wistar/ST 雄性ラット (Japan SLC, Hamamatsu, Japan)、体重 200-250 g に水に懸濁した BG 5、10、20、200 mg/kg/day を胃内ゾンデにより強制的に 7 日間連日経口投与を行った。コントロール群としては体重 kg 当たり同量の水を投与した。

2. 小腸マイクロソームの調製⁶³

BG を 7 日間連日経口投与後、ラットから小腸を摘出し、0.1 mM EDTA、0.5 mM ジチオスレイトール (DTT)、2 mM APMSF 含有の冷却 0.1 M リン酸水素カリウム緩衝剤 (pH 7.5) で洗浄し、絨毛層を取り除けるよう切開した。小腸粘膜は 0.5 mg/mL トリプシン阻害剤を含有する 0.1 M リン酸水素カリウム緩衝剤 (pH 7.5) を添加し、ホモジネートし、10,000×g にて 4℃、20 分間遠心分離した。その上清を更に 40,000×g にて 4℃、60 分間遠心分離し、小腸のマイクロソーム画分を調製した。小腸のマイクロソーム画分はリン酸水素カリウム緩衝剤に再懸濁し、冷凍保管 (-80℃) した。

3. CYP3A 活性測定⁵⁴

CYP3A 酵素活性はテストステロンから 6β-水酸化テストステロンへの代謝活性にて測定した。小腸マイクロソーム 0.5 mg、5 mM MgCl₂、0.1 M リン酸水素カリウム緩衝剤 (pH 7.4) に

テストステロン（メタノールに溶解）を添加して調製（最終容量0.5 mL）し、37°C、5分間プレインキュベーション後、NADPH generating system（2 mM NADP、10 mM G-6-P、1 unit G6PDH）を添加し、反応を開始させた。20分間インキュベーション後、2.5 mLのアセトニトリルで反応を停止させた。反応溶液を10,000 gにて4°C で15分間遠心分離後、その上清200 μ LをHPLCに供し、6 β -水酸化テストステロン量を測定した。

4. 6 β -水酸化テストステロン測定⁵⁴

HPLC装置はShimadzu LC-10ATを使用した。逆相HPLCカラムのInertsil ODS-3 column（4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m particles, GL Sciences Inc., Japan）を用いた。移動相は流速1 ml/minで、アセトニトリル：H₂O= 40：60の溶液を用いた。検出波長はUV254 nmを用いた。

酵素反応速度論的解析では、テストステロン0-200 μ M の範囲で6 β -水酸化テストステロン生成速度をLineweaver-Burkプロットし、K_m値、V_{max}値を測定した。

5. CYP3A タンパク量測定^{54,63}

摘出した小腸をPBS（－）で洗浄後、Lysis buffer（150 mM NaCl、10 mM Tris-HCl pH7.4、1 mM EDTA、0.5 mM DTT、1% Triton X-100、1%デオキシコール酸、protease inhibitor mixture）を加えてホモジネート後、1,500gで10分遠心分離を行い、細胞を回収した。その後、SDS buffer（62.5 mM Tris-HCl pH6.8、10%グリセロール、2% SDS、0.001 % bromophenol blue、5% 2-mercaptoethanol）に溶解し、煮沸した。タンパク量の定量にはBCA protein assay reagent kit（Sigma-aldrich）を用いた。タンパク量12 μ gを 12.5 %のアクリルアミドでSDS-PAGEを行ってタンパク質を分離した後、PVDF membraneに転写し、5% skim milk/PBS-T（PBS-T: 8 mM Na₂HPO₄、2 mM NaH₂PO₄、0.9%NaCl、0.05% Tween-20）を用いて室温で1時間ブロッキングを行った。一次抗体として抗CYP3A抗体（BD Biosciences）を1000倍希釈で用い、室温で1時間反応させた。PBS-Tで洗浄後、二次抗体（horseradish peroxidase conjugated antibody,

Santa Cruz Biotechnology) で1時間反応させた。PBS-Tで再び洗浄後、Western Blot chemiluminescence reagent (Nacalai Tesque) と反応させ、シグナルをX線フィルム上に露光して検出した。得られたバンドの定量は画像解析プログラム (Scion Image) により行った。なお、ローディングコントロールとして β -アクチンを用いた。

【結果】

ラットに BG を 5、10、20、200 mg/kg/day、7 日間連日経口投与後、小腸ミクロソームの CYP3A 酵素活性を Lineweaver-Burk プロットし (Figure 6)、薬物動態パラメータを算出した。その結果、Table 14 に示したとおり、 K_m に変化は認められなかったが、 V_{max} 値はコントロール群 0.173 ± 0.006 nmol/min/mg protein に対して BG 10、20、200 mg/kg/day 投与群でそれぞれ 0.142 ± 0.002 、 0.107 ± 0.01 、 0.090 ± 0.006 nmol/min/mg protein と、BG 10 mg/kg/day 以上の投与で有意な V_{max} 値の低下が認められた。また、BG 10 から 20 mg/kg/day まで用量依存的な CYP3A 酵素活性の阻害が認められたが、20 mg/kg/day と 200 mg/kg/day 投与時の V_{max} 値の差は認められず、酵素活性の飽和が考えられた。

更にラットに有意な酵素活性阻害が認められた BG (20 mg/kg/day) を 7 日間連日経口投与後、小腸の CYP3A タンパク発現量についてウェスタンブロット法で検討した。その結果、BG 20 mg/kg/day 投与群はコントロールと比較して約 50 %低下が認められ、有意なタンパク発現量の阻害が認められた (Figure 7)。

以上から、ラットへの BG 連日経口投与の結果、小腸における CYP3A 酵素活性及びタンパク量発現が顕著に阻害されることが明らかになった。

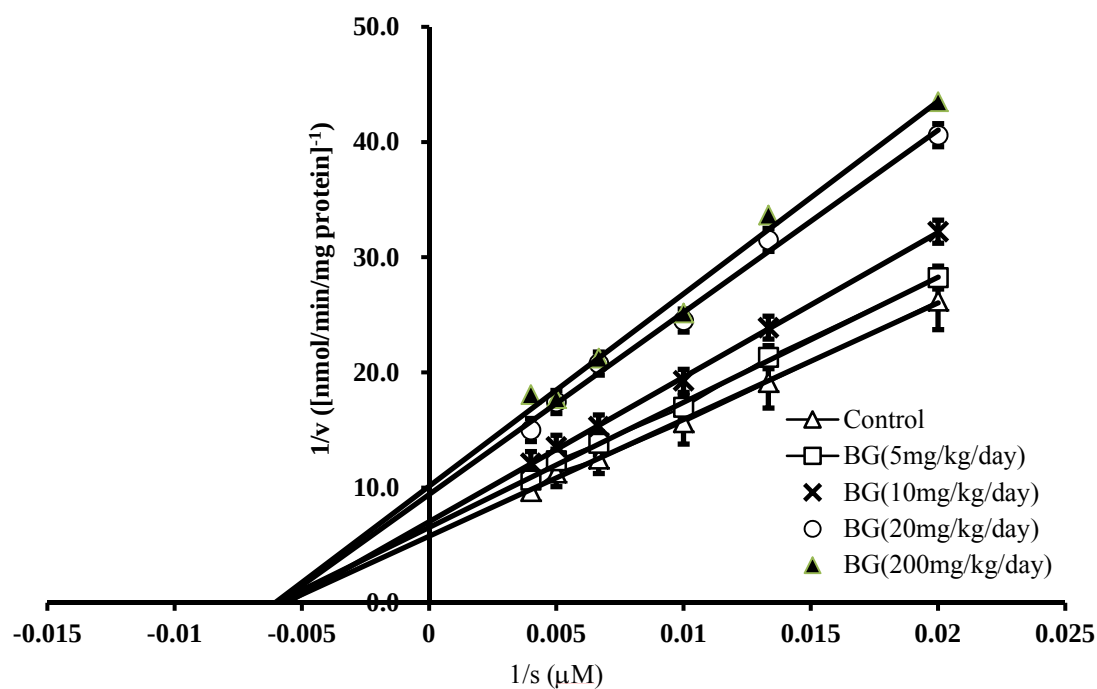


Figure 6 Effects of baicalin on CYP3A enzyme activity of intestinal microsomes after orally administered to rat.

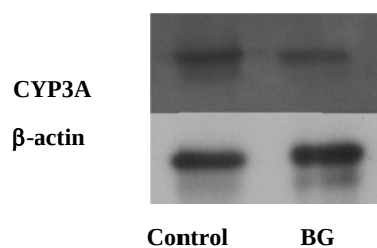
Rats were treated with BG by gastrogavage for seven days at the dosages of 0-200mg/kg/day. The control group received the same volume of water per kg body weight. CYP3A activity is measured by 6 β -OH testosterone formation. Results are means $\pm$ SD from triplicate to six experiments.

Table 14 Effects of baicalin on CYP3A activity of intestinal microsomes after orally administered to rat

	Km (μ M)	Vmax(nmol/min/mg protein)
Control	174.1 $\pm$ 6.1	0.173 $\pm$ 0.006
BG 5 mg/kg/day	166.0 $\pm$ 11.8	0.153 $\pm$ 0.015
BG 10 mg/kg/day	178.5 $\pm$ 3.8	0.142 $\pm$ 0.002 *
BG 20 mg/kg/day	175.1 $\pm$ 12.0	0.107 $\pm$ 0.01 *
BG 200 mg/kg/day	164.2 $\pm$ 8.9	0.090 $\pm$ 0.006 *

Rats were treated with BG by gastrogavage for seven days at the dosages of 0-200 mg/kg/day. The control group received the same volume of water per kg body weight. CYP3A activity is measured by 6 β -OH testosterone formation. Results are means $\pm$ SD from triplicate. *p < 0.05 compared with control

(a)



(b)

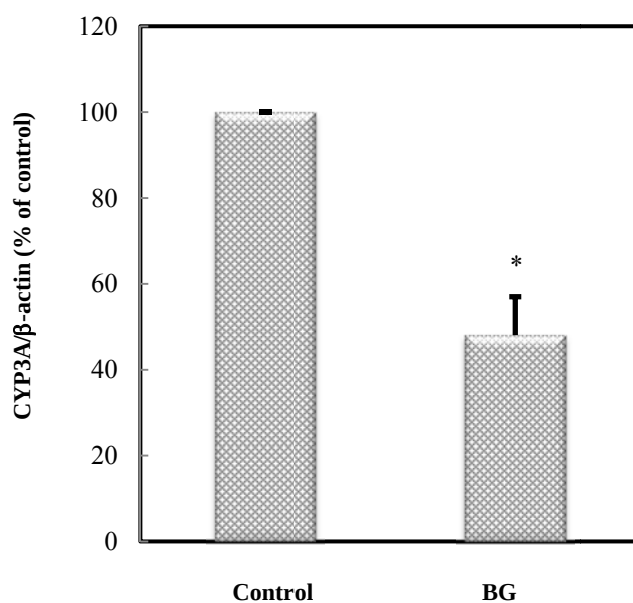


Figure 7 Effects of baicalin on intestinal CYP3A protein expression after orally administered to rat. Representative western immunoblot

Rats were treated with BG by gastrogavage for seven days at the dosages of 20 mg/kg/day. Representative western immunoblot for CYP3A(a), and quantitative analysis of CYP3A immunoprotein (b). The western immunoblot band intensities were normalized with that of β -actin. Results are means $\pm$ SD from six experiments. * $p < 0.05$ compared with control

第二節 ラット腸洗浄液によるバイカリン代謝能力の検討

ラットの腸内環境におけるバイカリン (BG) からバイカレイン (B) への代謝について検討を行った。

【方法】

1. ラット腸洗浄液の調製

7 週齢の Wistar/ST 雄性ラット (Japan SLC, Hamamatsu, Japan)、体重 200-250 g をウレタンで麻酔した後、絶食させずに胃下部から盲腸までを摘出した。更に、摘出した臓器をそれぞれ十二指腸、空腸上部、空腸下部、回腸上部、回腸下部、盲腸へ切断し、冷 PBS (ー) 2 mL で 2 回 (盲腸は 5 mL で 2 回) 洗浄した。洗浄液を 1,000 rpm で 10 分間遠心した後、その上清を回収し、- 80°C で保存した。

2. ラット腸洗浄液への BG 添加実験

盲腸から調製した腸洗浄液 1 mL に BG 溶液 (10 mg/ml メタノール溶解液 = 22.4 μ M) 10 μ L を添加した後、37°C でインキュベーションした。60 分後、反応液を酸化させ、更に 2.3 倍量のメタノールを入れて反応を停止させた後、10,000 rpm で 10 分間遠心してその上清を HPLC に供した。コントロール群には腸洗浄液の代わりに PBS (ー) 1 mL に BG または B 溶液 (10 mg/ml メタノール溶解液) 10 μ L を添加し、同様に処理した。

3. BG 及び B の定量

HPLC により BG 及び B の定量を行った。HPLC 装置は Shimadzu LC-10AT を使用し、ACOSMOIL5C18-AR-11 カラム (150 mm $\times$ 4.6 mm i.d., 5 μ m) を 40°C で使用した。移動相は流速 1 mL/min で、BG の分離には MeOH:H₂O:HAc = 50:50:1、B の分離には 20mM NaH₂PO₄·2H₂O: MeOH: AcCN = 80:15:5 を使用した。検出波長には 270 nm を用いた。

【結果】

ラットから摘出した胃下部から盲腸までの各部位より調製した腸洗浄液について、BG から B への代謝生成量を定量した結果、十二指腸部位では B 生成は検出されず、空腸上部で B が 70 μ M、空腸下部で 111 μ M、回腸上部で 133 μ M、回腸下部で 152 μ M と、腸下部に行くにつれて B 生成量増加が認められ、盲腸では 218 μ M と、ほぼ全量が B へと変換されることを示した (Figure 8)。なお、BG 及び B の回収率は 90%以上であった。

以上、ラット腸洗浄液の BG から B への代謝能力を検討した結果、小腸の空腸上部において代謝能力を有することを明らかにし、薬物吸収部位である小腸において BG は B へ代謝変換されることを示した。また、その代謝能力は腸下部に行くにつれて増加することが示された。

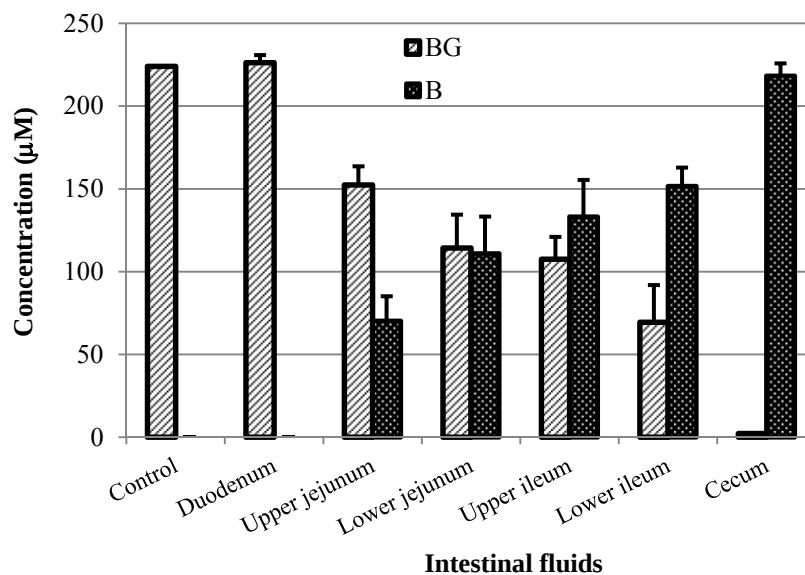


Figure 8 Metabolism of baicalin to baicalein by intestinal rinse fluid.

The intestinal tract was obtained from the anesthetized rat, and divided into five parts equally as duodenum, upper and lower jejunum, upper and lower ileum. These segments were rinsed by PBS (-) twice. The metabolizing capability of each fluids was analyzed when 100 μ g (224 μ M) of BG was added. Results are means $\pm$ SD from triplicate experiments.

第三節 $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ による CYP3A4 誘導 Caco-2 細胞のバイカレイン取り込みとバイカリン形成

$1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ による CYP3A4 誘導 Caco-2 細胞における、バイカレイン (B) の細胞膜透過性等、B の動態について検討した。

【方法】

1. 細胞株及び培養条件⁵⁴

ヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞株 P27.7 は Dr. Paul B. Watkins の御好意により入手した。実験には継代数 24 代から 30 代の細胞を用いた。増殖培地は非働ウシ胎児血清 (FBS:ICN Biomedicals) 10%、25 mM グルコース、4 mM L-グルタミン、0.1 mM 非必須アミノ酸、100 units/mL ペニシリン、100 units/mL ストレプトマイシン、250 nM アムホテリシンを含む DMEM (Nacalai Tesque) を超純水で調製した。培養は 37°C、5 % CO₂ インキュベーター内で行った。培地は 2、3 日毎に交換し、継代は 1 週間毎に 1 : 4 の比率で行った。

2. $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ 処置⁵⁴

Caco-2 細胞を Transwell[®] polycarbonate cell culture inserts (24 mm diameter, 0.4 μ m pore size, Costar Corp. Bedford, MA, USA) に播き、細胞分化させた。分化培地は 45 nM DL- α -トコフェロール、20 %FBS を含む増殖培地を用いた。10 日後、更に培地中に 0.1 mM sodium selenite、3 nM zinc sulfate、5 mM ferrous sulfate 及び 250 nM $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ (Wako Pure Chemical Industries) を添加した。37°C、5 % CO₂ インキュベーター内で 3 週間培養を行った。培地は 2、3 日毎に交換した。

2. 細胞モノレイヤー膜抵抗測定⁵⁴

Caco-2 細胞間の膜抵抗値 (transepithelial electrical resistance : TEER) は Millicell ERS device (Millipore, Bedford, MA, USA) により測定し、タイトジャンクションが形成し細胞間の結

合度が確立する $400 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 以上の Caco-2 細胞単層膜(モノレイヤー)を実験に供した。TEER

$$(\Omega \cdot \text{cm}^2) = \text{Resistance } (\Omega) \times \text{insert area } (\text{cm}^2)$$

3. B の取り込みと BG 形成⁵⁴

B を DMSO に溶解し、最終濃度が 15、30、50 μM となるように HBSS buffer に添加した。
 $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ 処置した Caco-2 細胞は PBS (ー) で 3 回洗い、37°C に温めた HBSS buffer を Transwell[®] の apical 側に 1.5 mL、basal 側に 2.6 mL 加えて 37°C、20 分間 CO_2 インキュベーター内で培養した。その後、B をそれぞれ 15、30、50 μM 含有した HBSS buffer 1.5 mL を apical 側加え、B 非含有 HBSS buffer を basal 側に 2.6 mL 加え、37°C、90 分 CO_2 インキュベーター内で培養した。apical 及び basal 両側から培地を 100 μL 回収し、HPLC 分析に供した。なお、100 μL 回収後は速やかに同量の HBSS buffer を添加した。

4. BG 及び B の定量

前節に準じた。

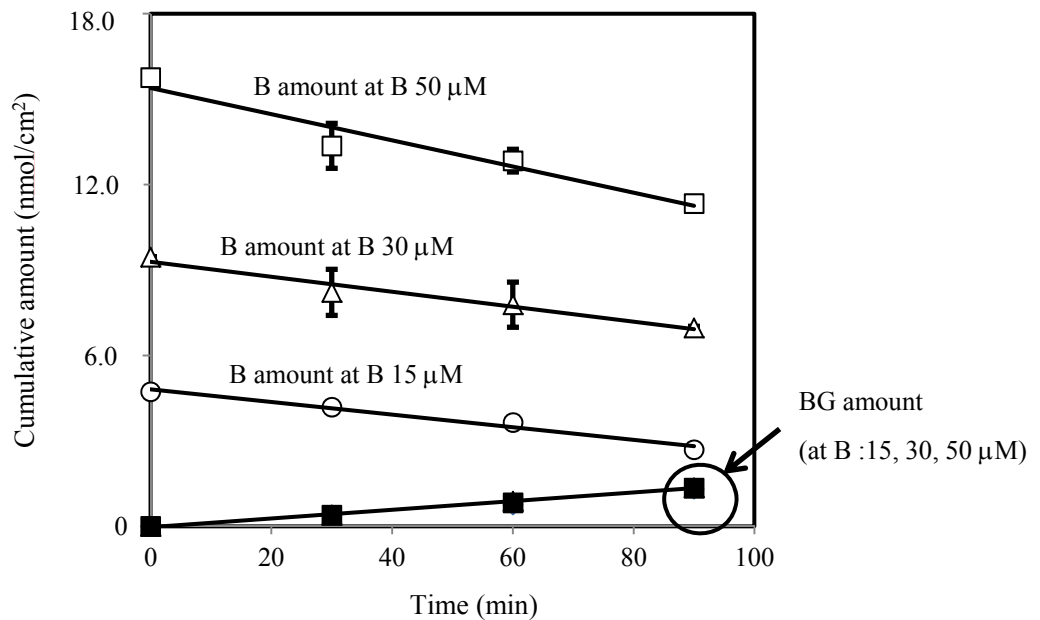
【結果】

B 15、30、50 μM を apical 側に添加後、Figure 9 に示したとおり、アグリコンである B は経時的、濃度依存的に apical 側の量が減少し、basal 側の増加が認められ、apical から basal 側へと B が移行された。apical、basal 側共に BG 量は B の添加初濃度にかかわらず、各回収時間毎で同程度検出された。BG が apical 側から検出されたことから、単純拡散または薬物排出トランスポーターの P-gp の関与が考えられた。

以上、B の $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ による CYP3A4 誘導 Caco-2 細胞への添加実験から、B の細胞膜透過性が認められた。また、B 添加後、BG が検出されたことから、本細胞系において B から BG への変換が行われることが確認でき、本細胞は UGT 活性を有することが示され

た。

(a) Apical



(b) Basal

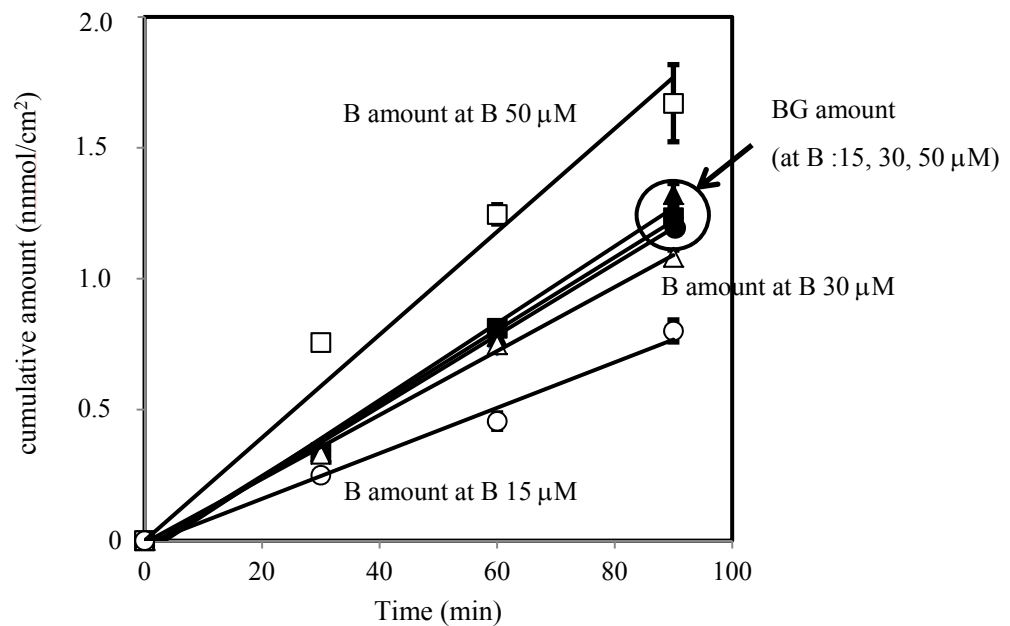


Figure 9 Baicalein uptake and baicalin formation on the modified Caco-2 cell monolayers. CYP3A4 induced Caco-2 cell monolayers were used to evaluate B uptake and BG formation. B (15, 30, 50 μM) was applied to the apical compartment and incubated for 90 min. Then Samples were obtained from both compartments for analysis of B and BG at a certain time. (a) shows the apical compartment, (b) shows the basal compartment. □: Amount of B in B 50 μM, △: Amount of B in B 30 μM, ○: Amount of B in B 15 μM, ▲: Amount of BG in B 50 μM, ■: Amount of BG in B 30 μM, ●: Amount of BG in B 15 μM. Results are means ± SD from triplicate experiments.

第四節 腸吸収・代謝 相互作用評価モデルに基づいたバイカリンの小腸 CYP 酵素活性及び P-gp に及ぼす影響

1 α , 25-(OH)₂-D₃ による CYP3A4 誘導 Caco-2 細胞に、腸内環境を反映し BG 代謝能を有するラット腸洗浄液を加えることでバイカルイン (BG) による CYP3A4 及び P-gp への影響の *in vitro* での再現性を検討した。

【方法】

1. ラット腸洗浄液の調製

前節に準じる。

2. 細胞株及び培養条件⁵⁴

前節に準じる。

3. 1 α , 25-(OH)₂-D₃ 処置⁵⁴

前節に準じる。

4. 細胞モノレイヤー膜抵抗測定⁵⁴

前節に準じる。

5. Rhodamine123 排出実験⁶⁴

P-gp への影響は Rhodamine123 の basal 側から apical 側への排出により評価した。

BG、B 50 μ M、及びBG 50 μ Mの腸洗浄液との反応液（腸洗浄液前処置群：BG-IF）を1 α , 25-(OH)₂-D₃によるCYP3A4誘導Caco-2細胞に添加し、72時間、37℃でCO₂ インキュベーター内で培養した。その後、Rhodamine123（5 μ M）を含むHBSS buffer 2.6 mLをbasal側添加し、HBSS buffer 1.5 mLをapical側に添加した。その後 37℃にてCO₂ インキュベーター内で培

養し、15分、30分、60分、90分後、apical側の培地をそれぞれ50 μ L回収し、蛍光分光計（PerkinElmer LS50B luminescence spectrophotometer）によりRhodamine123の定量を行った。Excitationは485 nm、emissionは530 nmにより行った。

6. CYP3A4 酵素活性測定⁵⁴

CYP3A4活性はニフェジピンから酸化ニフェジピンへの代謝活性にて測定した。BG、B及びBGの腸洗浄液前処置群（BG-IF）それぞれ 50 μ Mを $1\alpha, 25-(OH)_2-D_3$ によるCYP3A4誘導Caco-2細胞に添加し、72時間、37°CにてCO₂ インキュベーター内で培養した。その後、apical側にニフェジピン200 μ Mを添加し37°C、4時間培養後、basal側の培地を2.6 mL回収し、-80°Cで凍結保存した。

7. 酸化ニフェジピン測定⁵⁴

酸化ニフェジピンの測定には、HPLC装置としてShimadzu LC-10ATを使用した。逆相HPLCカラムのInertsil ODS-3 column（4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m particles, GL Sciences Inc., Japan）を用いた。移動相は流速1 ml/minで、メタノール：H₂O= 55：45の溶液を用いた。検出波長はUV254 nmを用いた。

8. CYP3A4 mRNA 測定⁵⁴

CYP3A4のmRNAはReal-time PCRにより定量した。細胞をPBS(-)で洗浄した後、TRIZOL（QIAGEN）を用いて、常法に従って細胞からtotal RNAを抽出した。RNAからcDNAへの逆転写反応は、1 μ gのRNAを鋳型とし、oligo（dT）primeを用いた。Real-time PCRにはSYBR GREEN I dye（Invitrogen）を50,000倍に希釈して用いた。用いたプライマーを次に示した。コントロールとしては β -アクチンを用いた。

CYP3A4

Forward primer sequence : 5'-ACTGAGTCCCACAAAGCTCTGTC-3'

Reverse primer sequence : 5'-AACTGCATCAATTCCTCCTGTC-3'

β -actin

Forward primer sequence : 5'-GGTCATCACCATTGGCAATGA-3'

Reverse primer sequence : 5'-GTAGTTTCGTGGATGCCACAGG-3'

転写反応液を用いて、各遺伝子に対する PCR を行い（試薬：Platinum® PCR SuperMix, Invitrogen）、更に PCR 産物の精製には QIAGEN MinElute PCR Purification kit を用いた。

【結果】

1 α , 25-(OH)₂-D₃ による CYP3A4 誘導 Caco-2 細胞に BG、B 及び BG の腸洗浄液前処置群（BG-IF）それぞれ 50 μ M 添加後の CYP3A4 酵素活性、mRNA 及び P-gp への影響を検討した。

その結果、BG 投与により CYP3A4 酵素活性に影響は認められなかったが、B 及び、BG-IF 投与群ではそれぞれ 54 %、44 % の活性低下が認められ、CYP3A4 酵素活性に有意な阻害が認められた（Figure10）。

また、BG 50 μ M 投与により CYP3A4 mRNA 発現量に影響は認められなかったが、B 及び、BG-IF 50 μ M 投与群ではそれぞれ 34%、43% の発現量低下が認められ、有意な阻害が認められた（Figure 11）。

Apical 側へ Rhodamine123 排出量は BG、B 及び BG-IF 50 μ M 投与のいずれの場合でも 30 分以降、経時的な増加を示したが、コントロール群との差が認められず、P-gp への影響は認められなかった（Figure 12）。

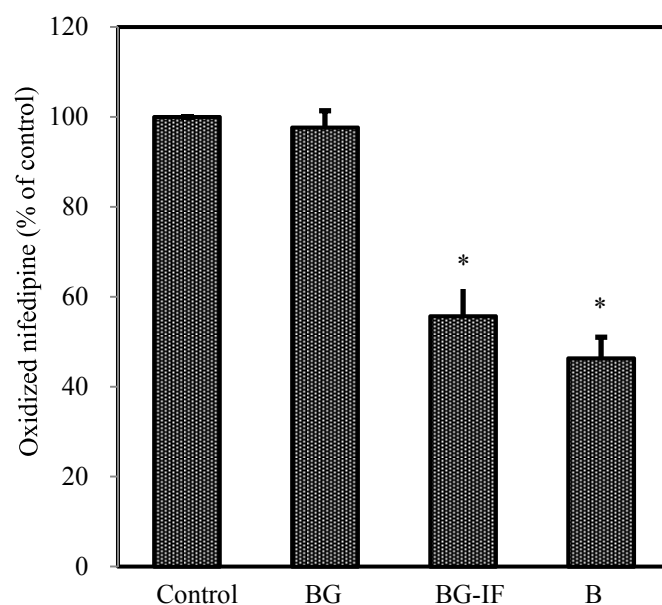


Figure 10 Effect of baicalin treated with intestinal rinse fluid on CYP3A4 activity in CYP3A4-induced Caco-2 cells

B, BG or the intestinal rinse fluid treated with BG (BG-IF) 50 μ M for 60 min were applied to the apical compartment of CYP3A4-induced Caco-2 cells. Nifedipine (200 μ M) was added to the apical compartment and incubated for 72 hr. CYP3A4 enzyme activity is measured by Oxidized nifedipine formation. Results are means $\pm$ SD from triplicate experiments.

* $p < 0.05$ compared with control

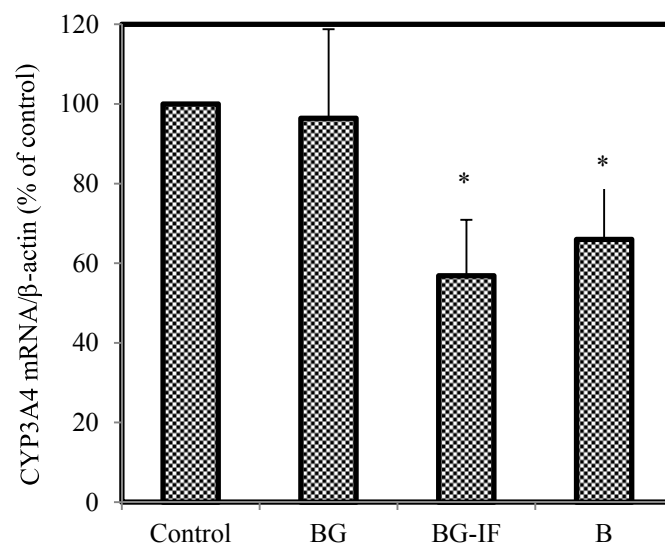


Figure 11 Effect of baicalin treated with intestinal rinse fluid on CYP3A4 mRNA expression in CYP3A4-induced Caco-2 cells

B, BG or the intestinal rinse fluid treated with BG(BG-IF) 50 μ M for 60 min were applied to the apical compartment of CYP3A4-induced Caco-2 cells. Nifedipine (200 μ M) was added to the apical compartment and incubated for 72 hr. Total mRNA was prepared for real-time RT-PCR. The CYP3A4 mRNA levels were normalized relative to the β -actin mRNA level in each sample. Results are means $\pm$ SD from triplicate experiments.

* $p < 0.05$ compared with control

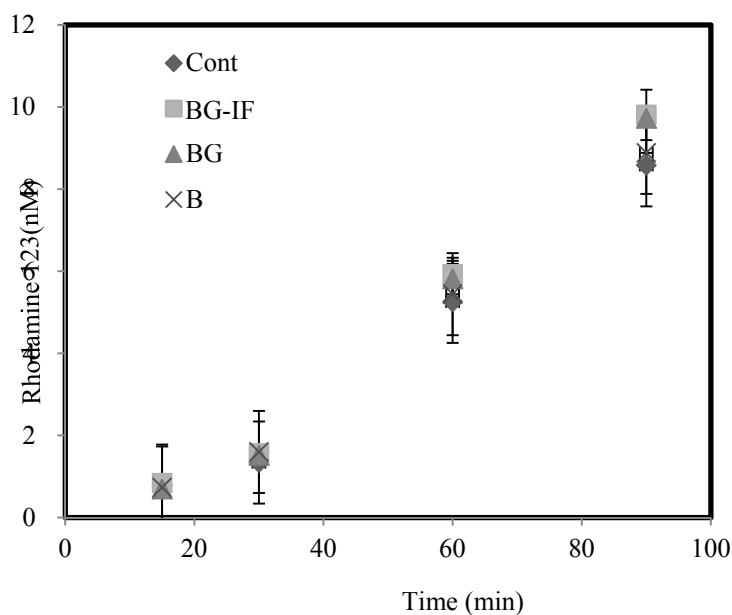


Figure 12 Effect of baicalin treated with intestinal rinse fluid on P-gp activity in CYP3A4-induced Caco-2 cell

B, BG or the intestinal rinse fluid treated with BG(BG-IF) for 60 min were applied to the apical compartment of CYP3A4-induced Caco-2 cells. Rhodamine 123(5 μ M) was added to the basal compartment and incubated for 72 hr. P-gp activity is measured by rhodamine 123 and efflux. Results are means $\pm$ SD from triplicate experiments.

第五節 考察及び小括

生活習慣病の増加や疾患の多様性に伴い、複数の薬剤併用を余儀なくされる患者が増加し、生薬製剤と西洋薬との併用投与が増加している^{65,66}。また、医療機関において処方される医療用生薬製剤だけでなく、昨今の健康ブームから健康食品等にも生薬製剤は繁用されている。しかしながら、副作用が問題となった小柴胡湯⁶⁷やセントジョーンズワート⁹等、一部を除いて生薬製剤と西洋薬の相互作用に関しては十分に把握されていない。生薬製剤は比較的長期的な服用がなされ、医薬品だけに留まらず、健康食品等、益々選択肢が増大していることから、西洋薬との併用療法の組み合わせはより複雑化を呈し、無限に拡大している。そのため相互作用に基づく副作用発生を未然に防ぐことが重要であり、スクリーニング系評価モデルの確立が不可欠である。また万が一、相互作用による副作用が惹起された場合、副作用の事象や薬剤の服用期間等の情報を蓄積し、相互作用発生機序の科学的解明にも評価モデルは活用できる。生薬製剤は複雑な薬物動態を示すことから、あらゆるリスクを想定して備えることがリスクマネジメントの観点から重要である。

相互作用に関する評価系としてはこれまで実験動物を用いた *in vivo* の系に加え、*in vitro* の系として動物・ヒト組織由来ミクロソームやヒト CYP 発現系細胞を用いた培養法等が報告されている⁶⁸。生薬製剤は複合化合物から成り、含有成分単体で見られた作用が総合的作用には至らない可能性が高く、相互作用の評価について総合的な評価が必要であることから、動物実験の利点と限界を理解し、目的に応じた評価系を用いることが重要である。

小腸の吸収・代謝の評価モデルとして汎用される Caco-2 細胞は CYP3A4 酵素活性レベルが低く、活性レベルでの評価が困難であったが、近年、 $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ を添加することによって、Caco-2 細胞の CYP3A4 活性が誘導されることが報告されている⁵²。しかし、長期的に服用される生薬製剤では安定して長期間 CYP3A4 活性を有する Caco-2 細胞が必要であり、我々は少なくとも 72 時間、CYP3A4 活性を保持する系を開発してきた^{53,54}。Herb-drug 相互作用スクリーニングや作用機序解明のため、更なる評価モデル開発に着手し、腸内環境を

反映させた簡便な評価モデル構築を試みることにした。

腸内環境のモデルとして、これまでに人工的な腸液を用いた検討は行われてきたが^{69,70}、血清アルブミン等を加え、pHを生体と近づけて調製した人工的な緩衝液であり、複雑な腸内細菌由来の酵素等による生物学的な反応をシミュレートすることは困難であった。

腸内細菌叢は小腸上部では菌数が少なく好気性細菌も含まれるが、腸下部に行くにつれて嫌気性環境になるため、偏性嫌気性菌が占め、菌数も増大する。腸内細菌叢は動物種固有の菌種、菌型から構成され、ラットとヒト間に腸内細菌の種差が存在すると言われている^{71,72}。ヒトの糞便から採取した試料を基に、ヒト大腸の腸内細菌叢の構成を*in vitro* で再現することが可能であることが報告されているが^{73,74}、モデル薬剤のBGはラットにおいて十二指腸から回腸部でBGがBへ変換されることが報告されていることから⁷⁵、小腸の腸内細菌叢を反映する必要があると考えた。またヒトの腸内細菌叢を含有する小腸試料入手は困難であり、腸内細菌叢は宿主の生活環境によって大きく影響を受けてしまうことから、安定した継続供給が困難である。簡便なスクリーニング評価系で腸内細菌叢を反映させるには、一定の生活環境下で育成することで、生活環境による腸内細菌叢の宿主間差（個体差）を抑えることができ、安定した継続供給が可能な動物モデルを用いることが妥当であると考えた。そこで、BGのラット小腸 S9画分の代謝能力に大きな差はないことが報告されていることから⁷⁶、我々はラットの腸洗浄液を用い、 $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ によるCYP3A4誘導Caco-2細胞に腸内環境を反映させることを計画した。本評価モデルに用いた腸洗浄液はラット腸内細菌叢由来の酵素やマクロファージ等を含有し、小腸から盲腸までの腸内環境を網羅的に反映しており、人工腸液では再現しえない生体環境を反映するものである。

まず我々は、ラットを用いて生体におけるBGのCYP3Aへの影響を検討した結果、連日経口投与により、10 mg/kg/day以上の投与でCYP3A酵素活性及びタンパク量発現が阻害される知見を新たに得た。これまで、BGに経口連日投与によるCYP3Aへの影響を検討した報告はなく、今回我々は初めてヒト臨床用量範囲（BG 5から10 mg/kg/day）でBGによる*in vivo*での

CYP3Aが阻害されることを明らかにした。

腸内環境での BG の代謝を調べるため、ラットの胃上部から盲腸までを摘出し、各部位の腸洗浄液による BG の代謝能力を検討した。BG から B への変換が認められたことから、用いた腸洗浄液には腸内細菌由来の β -グルクロニダーゼが含有していると考えられる。これまで BG はラットにおいて十二指腸から回腸部で BG が B へ変換されることが報告されているが⁷⁶、詳細な部位の特定や代謝能力の比較はされていなかった。今回我々は空腸上部から BG は B へ変換され、腸下部に行くに従い、代謝能力が高くなることを明らかにした。

通常、水溶性物質配糖体は小腸から吸収されないが、実験動物の血中内で水溶性の BG が検出されることから、BG は腸内細菌によって代謝されて生成したアグリコンの B が細胞内取り込まれた後、BG へ代謝変換されて血中に入ると考えられている⁵⁸⁻⁶²。そこで、本評価モデルに用いる $1\alpha, 25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$ による CYP3A4 誘導 Caco-2 細胞における、B の細胞膜透過性等、B の動態について検討した結果、B の細胞膜透過性が確認された。また B の apical 側への投与により、配糖体の BG 検出されたことから、この Caco-2 細胞には UGT 活性が保有されていることが確認できた。更に、BG が apical 側で検出されたが、実験に供した Caco-2 細胞の膜抵抗値 (TEER) は $400 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 以上で、細胞間のタイトジャンクション形成は保持されていることから、細胞間隙による漏出ではなく、細胞膜を介した単純拡散または薬物排出トランスポーターの関与が考えられた。

P-gp は薬物排出トランスポーターの ABC トランスポーターの一つであり、小腸上皮細胞に多く発現しており、CYP3A4 と基質特異性が非常に類似していることが報告されている⁷⁷。更に、肝臓や小腸で CYP3A4 と P-gp 両者が協調して経口薬剤の循環血中への移行を制限していることが知られている⁷⁷。この CYP3A4 と P-gp の協調作用による薬物消失機構によって CYP3A4 と P-gp の基質薬剤は経口投与により初回通過効果が大きく、バイオアベイラビリティが低いことが報告されており⁷⁸、CYP3A4 と P-gp の基質や阻害剤との併用は薬物相互作用を誘引する可能性が示唆されている。

そこで、 $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ による CYP3A4 誘導 Caco-2 細胞へラット腸洗浄液を加えた小腸の吸収・代謝評価モデルを用いて、CYP3A4 への影響に加え、P-gp への影響についても検討を行った。BG、B 及び腸洗浄液前処理した BG (BG-IF)、それぞれ 50 μM 投与により、P-gp の影響は認められなかったことから、前述の BG が本 Caco-2 細胞の apical 側で検出された事象は単純拡散による可能性が高いと考えられた。

CYP3A4 への影響については、BG 50 μM 投与では CYP3A4 活性に影響が認められなかったものの、B 及び BG-IF 50 μM 投与により顕著な CYP3A4 活性の阻害が認められた。すなわち、ラットへの BG 連日経口投与で認められた CYP3A 阻害を *in vitro* の評価系により再現することができた。このことから、ラットへの BG 連日経口投与で認められた CYP3A 阻害は BG ではなく、BG から腸内細菌によって代謝されて生成した B に起因すると考えられた。更に CYP3A4 mRNA 発現量の顕著な阻害が認められ、CYP3A4 への影響が mRNA 発現レベルから生じていることを明らかにし、バイカリンによる薬物動態プロファイル解明の一助となる知見を得た。

以上、本評価モデルは、ラット腸洗浄液を用いることにより、*in vivo* の事象を *in vitro* で再現することができ、腸内環境の再現を可能とした。本評価モデルは生薬製剤における薬物動態学的相互作用の評価に有用であり、より広範囲の経口生薬製剤を対象にした探索的調査が可能になると考える。

結論

本研究では、生薬製剤の臨床評価における現状の問題点を調査し、薬学の観点から、その問題点克服へ向けての試みとして、薬物相互作用評価のための簡便な評価系を構築、それを応用することにより以下の結論を得た。

1. セルフメディケーションの現状を経験・意識調査より明らかにし、セルフメディケーションの実践が進んでいるも、伝統薬やサプリメントに対する認識の偏りや、医薬品全般に対する不安感が示され、今後推進する上で適正使用に関する知識面の向上が課題であることを示した。
2. 生薬製剤における科学的エビデンスの現状を把握し、臨床評価におけるエビデンスの量的・質的な向上が認められるも、未だエビデンスが不十分であることを示した。
3. $1\alpha, 25-(OH)_2-D_3$ によるCYP3A4誘導Caco-2細胞にラット腸洗浄液を加えることにより、生薬製剤について*in vivo*で認められたCYP3A阻害を*in vitro*で再現することができる薬物相互作用評価系モデルを構築することができた。更に、この評価モデルにより、BGの薬物動態プロファイルの一部を明らかにした。

以上、本研究では、セルフメディケーションに関する現状調査、国民の意識調査の報告、また、生薬製剤治療における臨床評価の現状を科学エビデンス調査結果により報告し、「テラーメイド医療」へ向けての今後の課題を示した。セルフメディケーションの実践には適正使用に関する知識の向上とエビデンス構築が期待される。また、薬学の観点からエビデンス構築へ貢献するため、腸内環境による影響を考慮した生薬製剤の薬物相互作用評価系モデルを構築し、*in vivo*の事象を*in vitro*で再現することに成功した。本モデルは腸内環境を反映しており、生薬製剤を含む経口投与剤の簡便な Herb-drug 相互作用スクリーニング、並びに作用機序解明の一助となり、今後広範囲な経口生薬製剤を対象にした探索的調査による臨床現場へ情報還元が期待できる。

謝辞

本研究及の遂行、及び本論文の作成にあたり、終始御懇切なるご指導を賜りました、大阪大学総合学術博物館資料基礎研究系、兼、大阪大学院薬学研究科 伝統医薬解析学分野 准教授 高橋 京子 先生に心より厚く御礼申し上げます。

本研究及の遂行、及び本論文の作成にあたり、終始温かく御指導、御教唆頂きました、武庫川女子大学薬学部薬学部教授 高橋 幸一 先生、侯 曉瓏 博士に深謝いたします。

セルフメディケーションに関する意識調査実施にあたり、アンケート調査票作成、解析計画に種々の御助言を頂きました、米国サウスアラバマ大学 教授 Stephen W Schaffer 先生、長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部 教授 川瀬 雅也 先生に感謝いたします。

また、アンケート実施への協力をご快諾頂き、回答収集にご協力いただきました、米国セントジョーンズ大学 教授 Lau-Cam CA 先生、中国 瀋陽薬科大学 教授 Feng Qiu 先生、韓国 大邱カトリック大学 教授 Byung-Sun Min 先生、同じく韓国 忠南大学 教授 KiHwan Bae 先生に深く感謝いたします。

本論文のまとめにあたり、種々の御指導を頂きました、種々の御助言を頂きました、大阪大学大学院薬学研究科 情報・計量薬学分野 岡本 晃典 先生に心より感謝いたします。

本研究及の遂行にあたり、種々の御協力を頂きました、独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 九州沖縄農業研究センター 作物開発・利用研究領域 主任研究員 後藤 一寿 先生に感謝いたします。

また、種々の御ご協力を頂きました、島田 佳代子 修士、中村 勇斗 修士をはじめとする大阪大学薬学部 伝統医薬解析学分野の皆様感謝いたします。

なお、本研究は 2011-2013 年度日本学術振興会科学研究費補助金 [基盤研究 B (分担) 課題番号 22380135]による成果の一部である。

参考文献

- [1] Maizes V, Rakel D, Niemiec C.: Integrative medicine and patient-centered care. *Explore.*, 5, 277-289, 2009.
- [2] 日本統合医療学会 <http://imj.or.jp/>
- [3] 厚生労働省 平成 23 年度 医療費の動向－ MEDIAS －
<http://www.mhlw.go.jp/topics/medias/year/11/>
- [4] WHO: Guidelines for the Regulatory Assessment of Medicinal Products for Use in Self-Medication, Geneva, 2000.
- [5] 宗像 守: 医療体制の変化と OTC 薬のこれから.薬事. 51, 347-352, 2009.
- [6] 村田 正弘:医療に優先される政策課題はセルフメディケーション. *Excellent Pharmacy, Professional.* 14, 2012.
- [7] 山崎 幹夫:セルフメディケーションのすすめ. 調剤と情報,17, 1231-1233, 2011.
- [8] 小川雅史: 日常生活における健康管理と未病 くすりをリスクとしないように.日本未病システム学会雑誌. 16, 470-473, 2010.
- [9] Tsai HH, Lin HW, Simon Pickard A, Tsai HY, Mahady GB.: Evaluation of documented drug interactions and contraindications associated with herbs and dietary supplements: a systematic literature review. *Int J Clin Pract.*, 66, 1056-1078, 2012.
- [10] 篠塚 和正、大野 綾、禰占 奈美江: 健康食品、サプリメントと医薬品との相互作用 ハーブ類 (セイヨウオトギリソウ・ガーリック・朝鮮ニンジン) . *Functional Food*, 3, 59-64, 2009.
- [11] Hebert MF, Roberts JP, Prueksaritanont T, Benet LZ.: Bioavailability of cyclosporine with concomitant rifampin administration is markedly less than predicted by hepatic enzyme induction. *Clin Pharmacol Ther.*, 52, 453-457, 1992.
- [12] Gomez DY, Wachter VJ, Tomlanovich SJ, Hebert MF, Benet LZ.: The effects of ketoconazole on the intestinal metabolism and bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther.*, 58, 15-19, 1995.
- [13] Bond C, Hannaford P.: Issues Related to Monitoring the Safety of Over-The-Counter (OTC) Medicines. *Dr Safe.*, 26, 1065-1074. 2003.
- [14] Navarro VJ.: Herbal and dietary supplement hepatotoxicity. *Semin Liver Dis.*, 29, 373-382, 2009.
- [15] Verma S, Thuluvath PJ.: Complementary and alternative medicine in hepatology: review of the evidence of efficacy. *Clin Gastroenterol Hepatol.*, 5, 408-416, 2007.
- [16] Hughes L, Whittlesea C, Luscombe D.: Patients' knowledge and perceptions of the

- side-effects of OTC medication. *J Clin Pharm Ther.*, 27, 243-248, 2002.
- [17] Wazaify M, Shields E, Hughes CM, McElnay JC.: Societal perspectives on over-the-counter (OTC) medicines. *Fam Pract.*, 22, 170-176, 2005.
 - [18] Snyder FJ, Dundas ML, Kirkpatrick C, Neill KS.: Use and safety perceptions regarding herbal supplements: a study of older persons in southeast Idaho. *J Nutr Elder.*, 28, 81-95, 2009.
 - [19] González-Stuart A. Herbal product use by older adults. *Maturitas.*, 68, 52-55, 2011.
 - [20] Wawruch M, Kuzelova M, Foltanova T, Ondriasova E, Luha J, Dukat A, Murin J, Shah R.: Characteristics of elderly patients who consider over-the-counter medications as safe. *Int J Clin Pharm.*, 2012. Epub ahead of print.
 - [21] Siwek J, Gourlay ML, Slawson DC, Shaughnessy AF.: How to write an evidence-based clinical review article. *Am Fam Physician.*, 65, 251-258, 2002.
 - [22] Booth A, Brice A.: Evidence-based Practice for Information Professionals: A Handbook, Facet Publishing, pp.104-118, 2004.
 - [23] Donabedian A.: The Quality of Care How Can It Be Assessed ? *JAMA.*, 260, 1743, 1988.
 - [24] DOI Y.: Introduction-Conceptual Issues on Quality of Life (QOL) and Importance of QOL Research. *J Natl Inst Public Health.*, 53, 176-180, 2004.
 - [25] 池上直己, 下妻 晃二郎, 福原 俊一, 池田 俊也: 臨床のための QOL ハンドブック.医学書院. pp.1-30, 2001.
 - [26] Task Force for Evidence Report/ Clinical Practice Guidelines.: Evidence Reports of Kampo Treatment 2010 : 345 Randomized Controlled Trials (EKAT 2010),2010.
 - [27] Task Force for Evidence Report/ Clinical Practice Guidelines.: Evidence Reports of Kampo Treatment Appendix 2011(EKAT Appendix 2011), 2011.
 - [28] Jiang M, Yang J, Zhang C, Liu B, Chan K, Cao H, Lu A.: Clinical studies with traditional Chinese medicine in the past decade and future research and development. *Planta Med.*, 76, 2048-2064, 2010.
 - [29] Jin-Ling Tang, Si-Yan Zhan, Edzard Ernst.: Review of randomised controlled trials of traditional Chinese medicine. *BMJ.*, 319, 160-161, 1999.
 - [30] Bloom BS, Retbi A, Dahan S, Jonsson E.: Evaluation of randomized controlled trials on complementary and alternative medicine. *Int J Technol Assess Health Care.*, 16,13-21,2000.
 - [31] Leung PC, Lau TW, Woo KS.: Research on traditional Chinese medicine harmonizing two approaches. *Oriental Pharm Experi Med.*, 8, 17-23, 2008.
 - [32] Yuan R, Lin Y.: Traditional Chinese medicine: an approach to scientific proof and clinical validation. *Pharmacol Ther.*, 86,191. 2000.
 - [33] Elder C, Mossbrucker P, Davino-Ramaya CM, Bez I, Lin MM, Terry TA, Thomas EA, Jones S.: Integrating Herbs and Supplements in Managed Care: A Pharmacy Perspective. *Perm J.*, 12, 52-58, 2008.

- [34] Wolsko PM, Solondz DK, Phillips RS, Schachter SC, Eisenberg DM.: Lack of herbal supplement characterization in published randomized controlled trials. *Am J Med.*, 118,1087-1093, 2005.
- [35] Firenzuoli F, Gori L.: Herbal Medicine Today: Clinical and Research Issues. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 4, 37-40, 2007.
- [36] Motoo Y, Arai I, Hyodo I, Tsutani K.: Current status of Kampo (Japanese herbal) medicines in Japanese clinical practice guidelines. *Complement Ther Med.*, 17,147-154, 2009.
- [37] Qi GD, We DA, Chung LP, Fai CK.: Placebos used in clinical trials for Chinese herbal medicine. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.*, 2,123-127,2008.
- [38] 竹上未紗、福原俊一: 誰も教えてくれなかった QOL 活用法.NPO 法人健康医療評価研究機構,2009.
- [39] The EuroQol Group: EuroQol—a new facility for the measurement of healthrelated quality of life. *Health Policy.*, 16,199-208, 1990.
- [40] 日本語版 EuroQol 開発委員会:日本語版 EuroQol の開発. 医療と社会, 8, 109-123, 1998.
- [41] Brazier J, Roberts J, Deverill M.: The estimation of a preference based measure of health from the SF-36. *J Health Econ.*, 21, 271-292. 2002.
- [42] 福原俊一、鈴嶋よしみ:健康関連 QOL 尺度 SF-36v2 日本語版マニュアル. NPO 健康医療評価研究機構 (iHope International) , 2004.
- [43] Finlay AY, Khan GK.: Dermatology Life Quality Index (DLQI)-a simple practical measure for routine clinical use. *Clin Exp Dermatol.*, 19, 210-216. 1994.
- [44] 福原俊一、鈴嶋よしみ、高橋奈津子、中村元信、宮地良樹:皮膚疾患の QOL 評価 DLQO Skindex29 日本語マニュアル, NPO 健康医療評価研究機構 (iHope International) 2004
- [45] The Food and Drug Administration (FDA) : Guidance for Industry Botanical Drug Products. <http://www.fda.gov/>
- [46] Satoh N, Sakai S, Kogure T, Tahara E, Origasa H, Shimada Y, Kohoda K, Okubo T, Terasawa K.: A randomized double blind placebo-controlled clinical trial of Hochuekkito, a traditional herbal medicine, in the treatment of elderly patients with weakness N of one and responder restricted design. *Phytomedicine.*, 12, 549-554, 2005.
- [47] Manabe N, Camilleri M, Rao A, Wong BS, Burton D, Busciglio I, Zinsmeister AR, Haruma K.: Effect of Daikenchuto (TU-100) on Gastrointestinal and Colonic Transit in Humans. *Am J Physiol.*, 298, G970-975, 2010.
- [48] 薬事日報 : 2009 年 11 月 16 日版
- [49] 第 57 回日本東洋医学会シンポジウム EBM in Kampo Medicine : Future Perspective, 日本東洋医学会誌, 58, 433-473, 2007.
- [50] 正木 朋也、津谷 喜一郎: エビデンスに基づく医療 (EBM) の展開から学ぶものー EBM 普及に伴い経験した課題と解決策ー日本評価研究, 10, 3-16, 2010.

- [51] Science Advisory Committee of the Medical Outcomes Trust 2002 Assessing health status and quality-of-life instruments : Attributes and review criteria. *Quality of Life Research*, 11,193-205, 2002.
- [52] Schmiedlin-Ren P, Thummel KE, Fisher JM, Paine MF, Lown KS, Watkins PB.: Expression of enzymatically active CYP3A4 by Caco-2 cells grown on extracellular matrixcoated permeable supports in the presence of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃. *Mol Pharmacol.*, 51, 741-754, 1997.
- [53] Hou XL, Hayashi-Nakamura E, Takatani-Nakase T, Tanaka K, Takahashi K, Komatsu K, Takahashi K.: Curdione Plays an Important Role in the Inhibitory Effect of Curcuma aromatica on CYP3A4 in Caco-2 Cells. *Evid. Based Complement Alternat Med.*, Epub: 913898, 2011.
- [54] Hou XL, Takahashi K, Kinoshita N, Qiu F, Tanaka K, Komatsu K, Takahashi K, Azuma J.:Possible inhibitory mechanism of Curcuma drugs on CYP3A4 in 1 α ,25 dihydroxyvitamin D₃ treated Caco-2 cells. *Int J Pharm.*, 337, 169-177. 2007.
- [55] Evers DL, Chao CF, Wang X, Zhang Z, Huong SM, Huang ES.: Human cytomegalovirus-inhibitory flavonoids: studies on antiviral activity and mechanism of action. *Antiviral Res.*, 68, 124-134, 2005.
- [56] Shen YC, Chiou WF, Chou YC, Chen CF.: Mechanisms in mediating the anti-inflammatory effects of baicalin in human leukocytes. *Eur J Pharmacol.*, 465, 171-181, 2003.
- [57] Li-Weber M.: New therapeutic aspects of flavones: the anticancer properties of Scutellaria and its main active constituents Wogonin, Baicalein and Baicalin. *Cancer Treat Rev.*, 35, 57-68, 2009.
- [58] Ishihara M, Homma M, Kuno E, Watanabe M, Kohda Y.:Combination use of kampo-medicines and drugs affecting intestinal bacterial flora. *Yakugaku Zasshi.*,122, 695-701,2002.
- [59] Akao T, Hanada M, Sakashita Y, Sato K, Morita M, Imanaka T.: Efflux of baicalin, a flavones glucuronide of Scutellariae Radix, on Caco-2 cells through multidrug resistance-associated protein 2. *J Pharm Pharmacol.*, 59, 87-93,2007.
- [60] Akao T, Kawabata K, Yanagisawa E, Ishihara K, Mizuhara Y, Wakui Y, Sakashita Y, Kobashi K. : Baicalin, the predominant flavone glucuronide of scutellariae radix, is absorbed from the rat gastrointestinal tract as the aglycone and restored to its original form. *J. Pharm. Pharmacol.*, 52, 1563-1568, 2000.
- [61] Lu T, Song J, Huang F, Deng Y, Xie L, Wang G, Liu X.: Comparative pharmacokinetics of baicalin after oral administration of pure baicalin, Radix scutellariae extract and Huang-Lian-Jie-Du-Tang to rats. *J Ethnopharmacol.*, 110, 412-418, 2007.

- [62] Lai MY, Hsiu SL, Tsai SY, Hou YC, Chao PD.: Comparison of metabolic pharmacokinetics of baicalin and baicalein in rats. *J Pharm Pharmacol.*, 55, 205-209, 2003.
- [63] Kinoshita N, Yamaguchi Y, Hou XL, Takahashi K, Takahashi K.: Experimental Adjustment on Drug Interactions through Intestinal CYP3A Activity in Rat: Impacts of Kampo Medicines Repeat Administered. *Evid Based Complement Alternat Med.*, Epub: 827435, 2011.
- [64] Hou XL, Takahashi K, Tanaka K, Tougou K, Qiu F, Komatsu K, Takahashi K, Azuma J.: Curcuma drugs and curcumin regulate the expression and function of P-gp in Caco-2 cells in completely opposite ways. *Int J Pharm.*, 358, 224-229. 2008.
- [65] Mills E., Montori V., Perri D., Phillips E., Koren G.: Natural health product-HIV drug interactions: a systematic review. *Int. J. STD ATDS.*, 16,181-186, 2005.
- [66] Fugh-Berman A, Ernst E.: Herb-drug interactions: review and assessment of report reliability. *Br J Clin Pharmacol.*, 52, 587-595, 2001.
- [67] Ishizaki T, Sasaki F, Ameshima S, Shiozaki K, Takahashi H, Abe Y, Ito S, Kuriyama M, Nakai T, Kitagawa M.: Pneumonitis during interferon and/or herbal drug therapy in patients with chronic active hepatitis. *Eur Respir J.*, 9,2691-2696, 1996.
- [68] Zhou SF, Zhou ZW, Li CG, Chen X, Yu X, Xue CC, Herington A.: Identification of drugs that interact with herbs in drug development. *Drug Discov Today.*, 12,664-73, 2007.
- [69] Lakeram M, Lockley DJ, Pendlington R, Forbes B.: Optimisation of the Caco-2 permeability assay using experimental design methodology. *Pharm. Res.*, 25, 1544-1551, 2008.
- [70] Fossati L, Dechaume R, Hardillier E, Chevillon D, Prevost C, Bolze S, Maubon N.: Use of simulated intestinal fluid for Caco-2 permeability assay of lipophilic drugs. *Int J Pharm.*, 360, 148-155, 2008.
- [71] 光岡 知足: 腸内菌叢研究の歩み. 腸内細菌学雑誌, 25, 113-124,2011.
- [72] 服部 征雄: ヒト腸内細菌叢による和漢薬成分の代謝. ビフィズス, 5,27-40,1991.
- [73] 平山 和宏、伊藤喜久治: ヒトの腸内菌叢研究のための in vitro および in vivo 実験系. 腸内細菌学雑誌, 25 , 245-250, 2011
- [74] Miller TL, Wolin WJ. :Fermentation by the human large intestine microbial community in an *in vitro* semicontinuous culture system. *Appl Environ Microbiol.*, 42 ,400-407. 1981.
- [75] Liu T, Jiang X.: Investigation of the absorption mechanisms of baicalin and baicalein in rats. *J Pharm Sci.*, 95,1326-1333, 2006.
- [76] Zhang L, Lin G, Chang Q, Zuo Z.: Role of intestinal first-pass metabolism of baicalein in its absorption process. *Pharm Res.*, 22, 1050-1058, 2005.
- [77] Zhang Y, Guo X, Lin ET, Benet LZ.: Overlapping substrate specificities of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein for a novel cysteine protease inhibitor. *Drug Metab Dispos.*, 26, 360-366, 1998.

- [78] Christians U, Schmitz V, Haschke M.: Functional interactions between P-glycoprotein and CYP3A in drug metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.*, 1, 641-654, 2005.

主論文・参考論文リスト

主論文

1. Morisaki T, Takahashi K.: Evidence-based medicine in herbal treatment: Benefit to assess quality of life (QOL). *J. Trad. Med.*, articles in press, 30, 2013.
2. Morisaki T, Hou XL, Takahashi Ko, Takahashi K.: Novel *in vitro* model to address oral baicalin pharmacokinetics: CYP3A4-induced Caco-2 cell monolayers combined with rat intestinal rinse fluids. submitted.
3. Morisaki T, Nakamura Y, Schaffer SW, Kawase M, Lau-Cam CA, Feng Qiu, Byung Sun Min, KiHwan Bae, Takahashi K.: A survey on the awareness and perception for self-medication among Asia regions and US. in preparation.

参考論文

1. Uejima E, Takahashi K, Morisaki T, Takahashi K, Ohno M, Nishida Y, Moriya M, Kaido M, Abe K, Sakoda S, Yanagihara T, Kurokawa N, Azuma J.: Microsomal Enzyme Induction and Clinical Aggravation of Porphyria: The Evaluation of Human Urinary 6 β -Hydroxycortisol/Cortisol Ratio as the Index of Hepatic CYP3A4 Activity. *J Clin Pharmacol.*, 42, 1374-1379, 2002.
2. Takahashi K, Uejima E, Morisaki T, Takahashi K, Kurokawa N, Azuma J.: *In vitro* inhibitory effects of Kampo medicines on metabolic reactions catalyzed by human liver microsomes. *J Clin Pharm Ther.*, 28, 319-327, 2003.
3. 森崎智子: 生薬製剤治療の臨床評価:QOL 評価法, 生物工学雑誌,88,405-406, 2010.