

論 文 要 旨

Japanese Kampo saireito has a liver-protective effect through the inhibition of inducible nitric oxide synthase induction in primary cultured rat hepatocytes

漢方柴苓湯はラット初代培養肝細胞 (*in vitro* 肝障害モデル) において、誘導型一酸化窒素合成酵素の発現を抑制し肝保護効果を示す

関西医科大学外科学講座
(指導：権 雅憲 教授)

三木 博和

【背景・目的】

柴苓湯(saireito)は小柴胡湯と五苓散の合剤であり、12種類の生薬から成る。従って、その作用は小柴胡湯の抗炎症、免疫調節、ステロイド増強に、五苓散の利尿作用が加わったものである。小柴胡湯は薬効薬理に肝障害抑制、肝血流量低下抑制、肝再生促進作用などを有すると記載されているが柴苓湯にはこれらの作用の記載はない。また肝硬変等の慢性肝疾患に対する柴苓湯の有用性についての報告は散見されるものの、肝機能障害に対する改善効果に関しての明確なエビデンスはない。

肝臓では炎症時に、様々な炎症性サイトカイン（腫瘍壊死因子(TNF- α)やインターロイキン(IL)-1 β など)の産生とともに、誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)遺伝子の発現誘導を介して一酸化窒素(NO)の合成が促進される。過剰産生されたNOは肝障害因子の一つと考えられ、iNOS誘導を抑制することが肝障害の軽減に重要である。本研究では、炎症性サイトカイン刺激の肝細胞を“*in vitro* 肝障害モデル”として用い、iNOS誘導/NO産生の阻害を肝保護の指標として、柴苓湯の効果を検討した。

【方法】

Wistar雄性ラット(200g)からコラゲナーゼ灌流法と低速遠心により肝細胞を分離・培養した。初代培養した肝細胞を柴苓湯存在・非存在下にIL-1 β で刺激し、NO産生、iNOS誘導やそのシグナル経路について検討した。

【結果】

肝細胞はIL-1 β の刺激により、iNOSのみならずTNF- α やサイトカイン誘導性好中球遊走因子(CINC-1,ヒトIL-8アナログ)のmRNA発現を促進した。柴苓湯はiNOSとTNF- α のmRNA発現を抑制したがCINC-1には効果を示さなかった。iNOS誘導に対する効果を検討すると、柴苓湯は濃度依存性にNO産生ならびにiNOSタンパク質とそのmRNAの発現を阻害した。また、そのシグナル経路であるIkB/NF- κ BではIkB分解に影響を与えなかったが、NF- κ B活性化(核移行とDNA結合)を阻害した。さらに、もう一つの経路ではphosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Aktを介したIL-1 receptor Iの増幅を、上流のAkt活性化(リン酸化)で抑制することにより、そのmRNAとタンパク質の両レベルを阻害した。

【考察】

柴苓湯はiNOS誘導に対する強い阻害効果から、肝細胞に対する保護効果を有する可能性が推察された。さらに柴苓湯から分離された生理活性成分がiNOS誘導に影響を与えているという報告が多数あり、柴胡のサイコサポニン、人参のジンセノサイド、甘草のグリチルリチン、生姜のジンゲロール・ショウガオールなどが様々な動物モデルや主にマウスマクロファージ様RAW細胞においてNO産生を抑制した事が報告されている。これらの成分がiNOS誘導の抑制に寄与した結果、肝保護効果を示した可能性も考えられる。今後、肝障害動物モデルを用いた*in vivo*系による、柴苓湯の肝保護効果の確認が必要である。