

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）  
総合研究報告書

研究協力者 瀬尾尚宏 浜松医科大学皮膚科学教室 助手

**研究要旨** シジュウムやホソバキンソウに代表される天然生薬は Th1 環境優位な体質改善に有用であり、アトピー性皮膚炎、花粉症、喘息などの Th2 細胞介在型アレルギー疾患治療に期待されているが、その薬効機序については今だ不明な部分が多い。近年、Th1 細胞誘導抑制作用を持つ調節性 T (Tr) 細胞が同定された。Tr 細胞は天然生薬の薬効機序に何らかの関連があると考えられるが、それについての報告は今だ無い。そこで本研究では天然生薬の Tr 細胞機能に及ぼす影響についてマウスを用いた系で検討を行った。結果、IL-10 依存的な Tr 細胞増殖はシジュウムで強く、ホソバキンソウで微弱に抑えられることが判明した。さらにシジュウム経口投与マウスは Th1 細胞優位な体質変化が見られ、皮下移植した B16 細胞増殖を強く抑制した。以上より、天然生薬の中でも特にシジュウムは、Th2 細胞介在型アレルギー疾患治療に有用であることは勿論のこと、がんの予防効果を持つことも判明した。

**A. 研究目的**

シジュウムやホソバキンソウに代表される天然の生薬は免疫学的な Th1/Th2 バランスを Th1 細胞優位な状態に導く効果があるため、アトピー性皮膚炎、花粉症、喘息などに代表される Th2 細胞が介在したアレルギー疾患の治療や予防への応用に大きく期待されている。近年、この抗アレルギー機能を持つシジュウムやホソバキンソウによる Th1 細胞誘導機構が、それら生薬の Th1 細胞への直接作用ではなく、Th2 細胞活性を抑制する作用であることがいくつか報告された。

ところで近年免疫学では Th1 細胞介在性の炎症性自己免疫疾患や抗腫瘍免疫応答など Th1 細胞介在免疫反応を抑える細胞として調節性 T(Tr)細胞が新たに分類されたが、天然抗アレルギー製剤による Tr 細胞の動態に関する研究は今だ行われておらず、報告も皆無である。そこで本研究では天然生薬の Th1 細胞誘導とその誘導を調節する可能性の高い Tr 細胞との関連について詳細に検討を行った。

**B. 研究方法**

シジュウムの葉、皮、根より熱水

またはエタノール抽出した成分、またはホソバキシンソウより抽出し分離精製した5種類の活性成分(P3DC-4-2, P3DC-4-3, P3DC-4-4, P3DC-4-5, P2G2)を *in vitro* における Th1, Th2, Tr 細胞誘導時の培養液中に種々の濃度で混合し、誘導に伴う増殖の変化を測定した。

種々の濃度で葉、皮、根抽出シジュウムを経口投与した B6 マウスの皮下に B16 メラノーマ細胞を移植し、その後の腫瘍増殖および脾臓での Tr 細胞活性を IL-10 依存的な *in vitro* 増殖アッセイで、IL-4, IL-10, TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$  産生能を ELISPOT アッセイで、さらには Th1 細胞活性を刺激後の CD4+IFN- $\gamma$ +細胞数の変化のフローサイトメトリー分析により検討した。

### C. 研究結果

シジュウムの葉(エタノール抽出、熱水抽出)、根(エタノール抽出)、皮(エタノール抽出)より抽出した各成分は、*in vitro* における Th1 細胞や Th2 細胞の誘導増殖には何の影響も持たなかった。

シジュウムの IL-10 依存的な *in vitro* Tr 細胞誘導抑制効果は葉(エタノール抽出) > 皮(エタノール抽出) > 根(エタノール抽出)の順で強く、葉(熱水抽出)は何の抑制効果も見られなかった。

経口投与後のマウス脾細胞の Tr 細胞活性は葉(熱水抽出)で保持されていたが、葉(エタノール抽出) > 皮(エタノール抽出) > 根(エタノール抽出)の順で抑制されていた。葉(エタノール抽出)経口投与後のマウス脾臓ではあコントロール(無処理または葉(熱水抽出)投与群)に比べ IL-4, IL-10, TGF- $\beta$  産生が抑制され、IFN- $\gamma$  産生が亢進していた。また経口投与後の脾臓における Th1 細胞数は、葉(エタノール抽出) > 皮(エタノール抽出) > 根(エタノール抽出)の順でコントロール群よりも増加しており、葉(エタノール抽出)ではコントロールのほぼ倍に増加していた。また葉(熱水抽出)投与後のマウス脾臓中の Th1 細胞数はコントロール群のそれと同じであった。

皮下移植した B16 細胞増殖は葉(エタノール抽出)、皮(エタノール抽出)、根(エタノール抽出)を前投与したマウスの順で抑制されるが、葉(熱水抽出)で抑制効果は見られなかった。

ホソバキシンソウより抽出した5成分全てが Tr 細胞誘導抑制活性を持つが、P2G2 が最もその効果が強かった。しかしながらその抑制活性もコントロールの5~10%程度でありシジュウムに比べると非常に弱い抑制効果しか持たないことが判明した。

#### D. 考察

天然生薬の Tr 細胞活性抑制機能及びその効果による Th1 細胞活性上昇と Th1 細胞優位な体質改善に関する報告は世界で初めてである。以前から天然生薬とがんの予防に関しては曖昧ながら広く知られるところであるが、本研究はその詳細な作用機序の一端を提供するものであり、今後の天然薬物研究への重大な一助となるに違い無い。

シジュウムの Tr 細胞活性抑制成分は熱に感受性の物質であることは重大な示唆を提供する。これまでアレルギー疾患に対してはシジュウムは煎じた茶としての服用が一般的であるが、この摂取法ではがんなどの予防には適さない可能性がある。

#### E. 結論

シジュウムなどの天然生薬は Th1 細胞を強く誘導できる効果があることから Th2 細胞が病因となるアレルギー疾患ばかりでなく、Tr 細胞が抑制の中心となることが知られているがんの治療や予防にも有用だと考えられる。

天然生薬摂取の併用を念頭に置いたがん免疫治療法の開発に向け、今後はヒトでの天然生薬の Tr 細胞活性抑制効果を検討しなければならないし、有効性分の抽出法や摂取法にも改善が必要だと考えられる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Seo N., Hayakawa S., Takigawa M., Tokura Y.: Interleukin-10 expressed at early tumor sites induces subsequent generation of CD4<sup>+</sup> T regulatory cells and systemic collapse of anti-tumour immunity. *Immunology*. 103: 449-457, 2001.
- 2) Takigawa M., Tokura Y., Hashizume H., Seo N.: Percutaneous peptide immunization via corneum barrier-disrupted murine skin experimental tumor immunoprophylaxis. *Ann. New York Acad. Sci.* 941: 139-146, 2001.
- 3) Seo N.: Suppressor lymphocytes participating in collapse of antitumor immunity. *Recent Research Developments in Immunology*, 3: 61-74, 2001.
- 4) Seo N., Hayakawa S., Tokura Y.: Mechanisms of privilege for tumors by regulatory cytokines produced by innate and acquired immune cells. *Seminars in Cancer Biology*, 12: 291-300. 2002.
- 5) Seo N., Furukawa F., Tokura Y., Takigawa M., Vaccine therapy for CTCL. *Hemtol/Oncol. Clin. North Am.* 17: 1467-1474, 2003.

#### G. 知的所有権の取得状況

なし