

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

漢方医学 (1995.10) 19巻10号:319～321.

マウスchemical induced-papilloma系に及ぼす漢方方剤の抑制効果

橋本喜夫、浅野一弘、豊田典明、飯塚 一

マウスchemical induced-papilloma系 に及ぼす漢方方剤の抑制効果

橋本 喜夫, 浅野 一弘, 豊田 典明, 飯塚 一

Key Words chemical induced-papilloma系, 十全大補湯, DNA-flow cytometry

要 旨

マウスのDMBA(dimethyl benzanthracene), TPA(12-tetradecanoylphorbol-acetate)によるchemical induced-papilloma系に与える漢方方剤の影響を検討した。使用方剤は十全大補湯、小柴胡湯、猪苓湯をCE-2食に1%混じて与え、

飲料水は自由摂取させた。十全大補湯投与群はその他の群と比較して腫瘍発生率、腫瘍数、腫瘍重量の抑制効果がみられた。DNA-flow cytometryによる各群の腫瘍のploidyを比較したが差はみられなかった。

緒 言

漢方方剤の中には免疫増強作用や抗腫瘍効果を示すものがあり、臨床的研究、動物実験などで多数報告¹⁻³⁾がある。たとえば小柴胡湯は肝癌の発症予防の臨床効果なども報告⁴⁾されている。今回われわれは、2段階発癌の古典的実験系であるDMBA, TPAによるchemical induced-papillomaの系に対し、漢方方剤である小柴胡湯、猪苓湯、十全大補湯の与える影響を検討した。

与したのち、マウス背部を剃毛後、イニシエーターとしてDMBAを50 μ g塗布し、2週間後からTPAを20 μ g週2回15週間塗布した。発生してくるpapilloma数、最大腫瘍径を計測し、最大腫瘍重量を戎野の報告⁵⁾にもとづき次式により計算した。

$$W = \pi / 6 \{ (a + b) / 2 \}^3 (a, b: \text{腫瘍の長径, 短径})$$

腫瘍部のDNA-flow cytometryは常法通りに行った。なお、漢方方剤混合飼料は㈱ツムラから供与されたものを使用した。

方 法

それぞれ6週齢のCD1 mouse(体重20g)に小柴胡湯、猪苓湯、十全大補湯を1%混合したマウス基礎食のCE-2食を与え、コントロールはCE-2食のみを与えた。各群それぞれ5匹、十全大補湯群のみ6匹使用した。飲料水は自由摂取させた。これらの食餌を8週間前投

結 果

図1は縦軸が腫瘍発生頻度、横軸は時間経過を示した。腫瘍出現はコントロール、小柴胡湯投与群では7週目(initiationから)、猪苓湯投与群では8週目、十全大補湯投与群では9週目であり、十全大補湯群に腫瘍発生の遅延がみられた。またpapilloma発生頻度はcontrol、小柴胡湯、猪苓湯群では100%腫瘍が発生したが、十全大補湯群では66%で腫瘍発生がみられない個体があり、発生頻度の抑制効果がみられた。図2は1匹あたりの

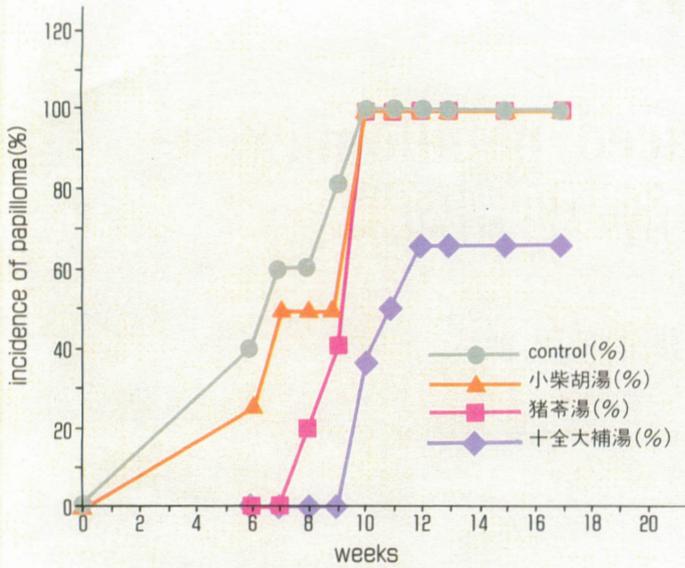


図1 腫瘍発生頻度に対する各種方剤の効果

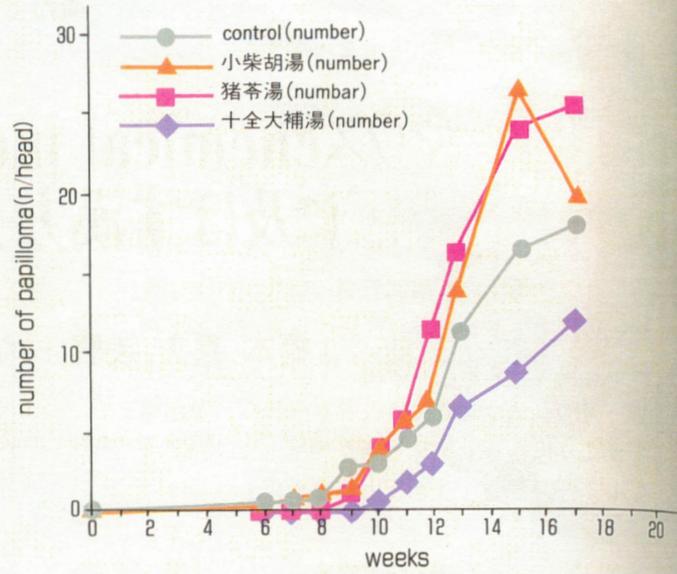


図2 Papilloma数に対する各種方剤の効果

平均papilloma数の継時的推移を示した。十全大補湯では腫瘍数に対しても抑制効果はみられるが、小柴胡湯、猪苓湯はむしろcontrolに比べ数が多い傾向にある。13週、15週、17週の腫瘍数/個体と最大腫瘍重量を表1に示した。ばらつきが大きく、nの数も少ないため腫瘍数/個体、最大腫瘍重量ともにKruskal-Wallisの検定では4群間に有意差はみられなかった。十全大補湯投与群(n=6)と十全大補湯非投与群(その他の3群)(n=15)の2群に分けて、Man-Whitney U検定を行えば、13週、15週、17週における腫瘍数/個体と15週と17週の最大腫瘍重量で十全大補湯投与群は非投与群に比べ有意差(p<0.05)が見つかるが、3群をグループ化するのは統計学的に無理がある。マウスの細胞性免疫能をみるためにDNFB(dinitrofluorobenzene)を背部に塗布し、24h後に病理組織的に検討したところ、コントロールマウスの組織像は、表皮の乳頭腫様構築に加えて、SCCといえるanaplastic cellがみられ、間質にはあまり炎症細胞浸潤もみられなかった。これに対し十全大補湯群の組織像ではリンパ球、好酸球などかなりの炎症細胞浸潤がみられた。図3はそれぞれの群の腫瘍部分の代表的なDNAヒストグラムを示したが、明確なaneuploidyはみられず、すべての群でdiploidyであった。

考案

十全大補湯は細胞性免疫、免疫応答、TNF-αをはじめ

表1

	Control (m±s.e.)	小柴胡湯 (m±s.e.)	猪苓湯 (m±s.e.)	十全大補湯 (m±s.e.)
平均腫瘍数(13週)	11.2±2.1	14.0±4.4	16.4±4.0	6.5±3.5
平均最大腫瘍重量(13週)(mg)	72.4±28	146±125	41.2±15	40.9±20
平均腫瘍数(15週)	16.4±3.2	26.2±3.3	24±6.9	8.5±5.5
平均最大腫瘍重量(15週)(mg)	214.9±67	509.3±321	132.7±48.8	99.1±41
平均腫瘍数(17週)	18.0±3.43	19.75±1.65	25.6±6.6	7.83±5.89
平均最大腫瘍重量(17週)(mg)	394.3±161	394.4±140.7	140.9±79.8	66.32±51.5

めとしたサイトカイン誘導能など免疫系に影響を与えるという基礎的データは数多く報告⁵⁻⁷⁾されている。そこで十全大補湯のcell cycle, DNA合成に与える影響を検討するために、組織学的にヒト表皮にきわめて類似する豚皮膚の器官培養系を用いて検討した。結果は十全大補湯、小柴胡湯、猪苓湯はDNA合成に影響を与えず、cell cycleにも影響はみられなかった(data not shown)。従って十全大補湯の腫瘍発生抑制効果および増殖抑制効果はcell cycleやDNA合成に直接作用するわけではなく、主に免疫系を介して作用している可能性が示唆された。このことは組織学的に十全大補湯投与群の腫瘍部分の炎症細胞浸潤が幾分強くみられたこととも関連するかもしれない。十全大補湯がchemical

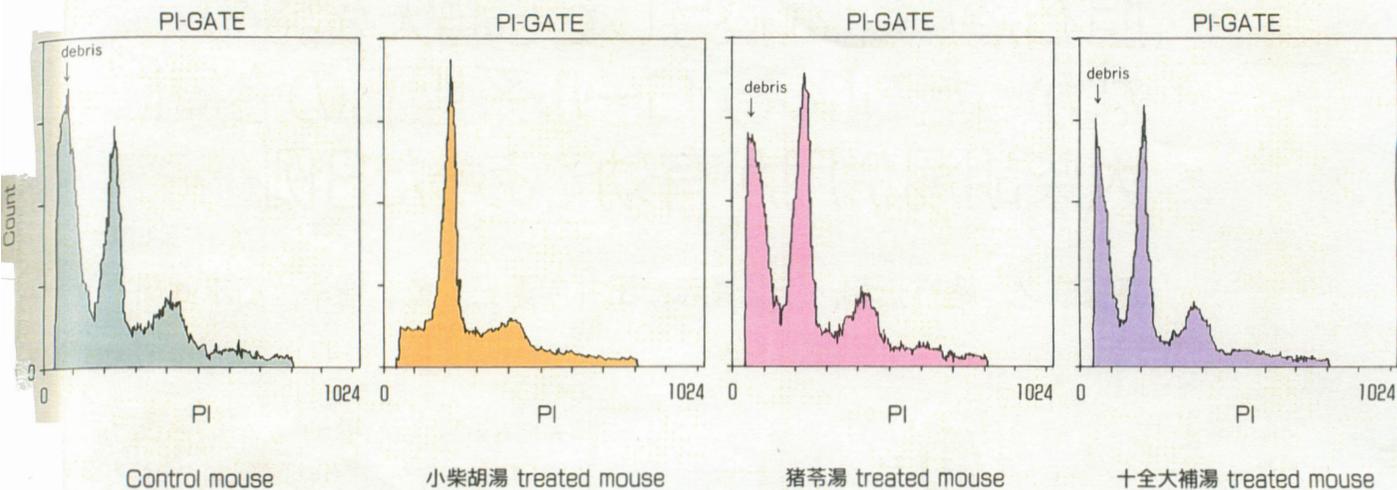


図3 Representative DNA histograms of chemical-induced papillomas

induced-papilloma系を抑制する報告はすでになされているが、今回の我々の実験系の特徴は8週間という長期間、漢方方剤を前投与したことである。これはchemopreventionとしての漢方方剤の可能性や「未病を治す」という漢方独特の概念を意識して行ったものだが、これらの疑問を解決するには至らなかった。また小柴胡湯群ではむしろ腫瘍数、最大腫瘍重量がコントロールに比べ大きい傾向がみられた。同様な傾向が原中の報告⁸⁾を子細にみると認められているが、この理由については不明である。

結 語

1) 小柴胡湯、猪苓湯、十全大補湯のマウスのchemical-induced papilloma系に与える影響を検討した。

2) 十全大補湯投与群ではコントロール群に比べて腫瘍発生の遅延、発生頻度の抑制、腫瘍数と腫瘍重量の減少効果がみられた。

3) 組織学的にコントロール群に比べ、十全大補湯群ではDNFB塗布後の炎症細胞の浸潤の程度が強い傾向がみられた。

4) 各群に生じた腫瘍部のDNAヒストグラムにploidyの差はみられなかった。

●文 献

- 1) 安達 勇：ヒト乳癌培養細胞系のclonogenic cell assayを用いた漢方方剤および生薬における抗腫瘍性の検討。漢方医学, 10(4): 13~16, 1986
- 2) 細川 康：放射線との併用による漢方方剤の制癌効果と液性免疫活性への影響。漢方医学, 11(12): 10~15, 1987
- 3) 伊藤 均：抗腫瘍作用の増強と副作用；耐性軽減効果よりみた漢方方剤の臨床応用の可能性。漢方医学, 13: 45~49, 1989
- 4) 沖田 極：肝発癌の化学的予防と小柴胡湯。漢方医学, 13: 243~248, 1989
- 5) 戎野庄一, 平野敦之, 曲人 保, 他：癌化学療法における漢方方剤併用投与の基礎的検討；マウスにおけるシスプラチンの毒性軽減効果ならびにマウス膀胱癌(MBT-2)に対するシスプラチンとの併用効果に関する検討。J Jpn Soc Cancer Ther, 24: 1305~1312, 1989
- 6) 阪上吉秀, 溝口靖紘, 宮島慶治, 他：十全大補湯の抗腫瘍活性およびγ-インターフェロンとインターロイキン2産生誘導能について。アレルギー, 37: 57~60, 1988
- 7) 武元則人, 丸山博文, 川村秀樹, 他：十全大補湯の免疫学に対する作用—マウスリンパ系細胞に対する十全大補湯のマイトジェン活性。炎症, 9: 137~140, 1989
- 8) Satomi N, Sakura A, Iimura F, et al: Japanese modified traditional Chinese medicines as preventive drugs of the side effects induced by tumor necrosis factor and lipopolysaccharide. Mol Biotherl, 1: 155~162, 1989
- 9) 原中瑠璃子, 小曾戸洋, 平馬直樹, 他：十全大補湯、桂皮の抗腫瘍作用に関する研究。和漢医薬会誌, 4: 49~58, 1987