「通痺靈」のII型コラーゲン誘発関節炎に対する作用

李 頌華・山内康平^{*1)}, 小林裕太^{*2)}, 権田辰夫^{*3)}, 中村守彦・恒松徳五郎^{*1)}

Study of efficacy of 'Tsu-hi-rei' on collagen-induced arthritis

It was demonstrated that the oriental medication 'Tsu-hi-rei' is clinically useful and effective in treatment of patients with rheumatoid arthritis in China. This effect was supposed to be due to immunomodulation by decreasing of rheumatoid factor and immunoglobulin levels and various parameters of inflammation.

So a basic experiment to investigate its mechanism of action was scheduled by using collagen-induced arthritis in DBA/1J mice. From 4 weeks after booster injection of type II collagen, "Tsu-hi-rei" and western medication such as indomethacin and an immunomodulator were given, and their effects were compared by clinical observation, X-ray findings and pathologic examination. Anti-collagen antibody was also measured in each treatment group by ELISA.

"Tsu-hi-rei" showed suppression of collagen-induced arthritis in frequency and severity. The soft X-ray study revealed decreased bone-destruction and, in sera, titers of anticollagen antibody were lower than in controls.

These data suggest that "Tsu-hi-rei" has an anti-inflammatory and immunosuppressive effect on collagen-induced arthritis.

*Songhua Li · Yasutaka Yamauchi^{*1)},
Yuuta Kobayashi^{*2)}, Tatsuo Gonda^{*3)},
Morihiro Nakamura · Tokugoro Tsunematsu^{*1)}*

**key words : rheumatoid arthritis, collagen,
mice, collagen-induced arthritis, Tsu-hi-rei**

慢性関節リウマチ(RA)の治療には非ステロイド性抗炎症剤, 副腎皮質ステロイド剤, 免疫抑制剤および免疫調節剤が主として使用されている。最近では漢方薬も注目され, 日本でも種々の薬剤が使われるようになってきている。

「通痺靈」は中国廣州中医学院にて開発された純中医薬剤であり, RA 52 例における臨床試験に

より有効性が報告されている。しかも現在使っている西洋薬剤にくらべて副作用が非常に少ない^{1,2)}。

「通痺靈」の作用機序は, 抗炎症・鎮痛作用とともに免疫調節作用のあることが示された。筆者らは, 動物実験にてこの点を明らかにするためにII型コラーゲン誘発関節炎モデルマウスに投与して, その効果を観察し, 併せて作用機序の解明を試みた。

材料と方法

(1) 実験動物

DBA/1J マウス(日本チャールスリバー社より購入)雄, 8 週齢, 体重 18~20 g を用いた。

(2) II型コラーゲン関節炎誘発方法

Courtenay らの原法に従い³⁾, ウシII型コラーゲン(フナコシ株式会社)を 0.1 M 酢酸に溶解し 2 mg/ml とし, Freund's 完全アジュバント(FCA, 三光純薬株式会社)と 1 : 1 に混和し, エマルジョンとした。これをマウス 1 匹当たり 0.1 ml を尾根部皮下に注射した。2 週間後に同じ操作で追加注射した⁴⁾。

マウスにウシII型コラーゲンを初回注射して, 4 週目から RA 様関節炎の発症を観察した。

(3) 薬剤投与

① 「通痺靈」群(6 匹): 錠剤を破砕して水にて懸濁液を作成し, 1.9 g/kg/day を投与した。

② インドメサシン群(6 匹): 水溶液を作成して用いた 2 mg/kg/day を投与量とした。非ステロイド性抗炎症剤の代表として用いた。

③ SM-8849(化学名 4-[1-(2-Fluoro-4-biphenyl)ethyl]-2-methylaminothiazole)群⁴⁾(6 匹): 新しく開発された薬物で動物実験にて免疫調節薬としての効果が認められている: 50 mg/kg/day を投与した。

④ 陽性対照群(5 匹): コラーゲン注射したあと, 薬剤を投与せず, 生理食塩水を投与し, 同じ

^{*1)} Third Division of Internal Medicine, ^{*2)} Department of Pharmacology, ^{*3)} Department of Biological Test, Shimane Medical University 島根医科大学第三内科学教室, ^{*2)} 同薬理学教室, ^{*3)} 同動物実験施設

図1 実験のスケジュール

表1 コラーゲン誘発関節炎発症スコア

0点: 関節炎発症なし.

1点: 軽度又は中等度の関節炎の発症あり.

2点: 高度の関節炎の発症あり.

四肢発症のスコアを加算すると最高スコアは8点に達する.

表2 X線骨破壊スコア

0点: 正常

1点: 軽度または中等度骨破壊

2点: 著明骨破壊

X線の判定は前足部と後足部以下であり, 四肢骨破壊のスコアを加算すると最大は8点に達する.

実験条件にて経過観察した.

⑤ 陰性対照群(5匹): コラーゲンを注射せず, また投薬もせず観察した.

実験スケジュールを図1に示した. 薬剤は初回注射4週目より投与開始し, いずれも胃ゾンデを用いて毎日経口投与した.

(4) 実験治療の評価

薬剤投与後, 毎週2回8週間にわたり関節所見を肉眼的に観察した. 前後肢の発赤, 腫脹および強直性のあるものを関節炎とした. 軟X線撮影は投薬8週目, 脱血死させたものについて行い, 所見は骨関節の破壊の程度により分類した. 関節炎発症の程度は表のごとく採点した.

投薬後8週目に, マウスはすべて脱血死させ, 得られた血清については血中抗コラーゲン抗体価をELISAで測定した⁵⁾.

結 果

(1) 薬剤投与後の経時的関節炎スコア

薬剤投与後, それぞれの群に属する動物の全関節について炎症の程度を採点して関節炎スコアを

図2 II型コラーゲン誘発関節炎スコア
マウス関節部の発赤, 浮腫, 強直性変化などを指標にして, 関節炎スコアを経時的に求めた. 「通痺霊」群はSM-8849群と略同程度に抑制がみられた. インドメサシン群でも抑制がみられる.

求め, その推移を観察した(図2).

「通痺霊」群は, 陽性対照群にくらべて関節炎スコアの上昇が著明に抑制された. インドメサシン群では早期に, 「通痺霊」群とSM-8849群では中後期に著明な抑制が認められた.

(2) 治療実験終了時の所見

① 治療8週後で肉眼的に観察した関節炎の所見を図4に示す. 「通痺霊」群, 陽性対照群, 陰性対照群での関節炎の代表例を示す. 陽性対照群での2点の関節炎, 「通痺霊」群, 陰性対照群での0点のものを示した.

② 軟X線写真で観察された関節炎の所見を図5に示す. 陽性対照群では骨質の溶解, 関節の変形が著明で2点の所見である. 「通痺霊」群では骨破壊が軽く, 骨質と関節構造は基本的に保たれ0点の所見である.

③ 軟X線所見による関節炎スコアは図6に示すごとく, 陽性対照群は6.8点に対して「通痺霊」群2.9点, SM-8849群2.7点で, 推計学的に有意な低下を示した. インドメサシン群は有意な低下を示さなかった.

④ 抗II型コラーゲン抗体価は図7に示すごとく, 陽性対照群に対し「通痺霊」群とSM-8849群では抗II型コラーゲン抗体価は推計学的に有意な低下を示した. それに対してインドメサシン群は有意な低下を示さなかった.

図3 治療された8週間後で「通痺霊」群とマウス陽性対照群、陰性対照群の比較
陽性対照群マウスの左前足と「通痺霊」群、陰性対照群のを比較すると、発赤、腫脹が認められず、よく抑制を示している。

a: 陽性対照群, b: 陰性対照群, c: 「通痺霊」群

図4

マウスのX線写真では陽性群の骨破壊程度が著明で、骨質の溶解、関節の変形などを認める。「通痺霊」群では骨破壊が軽く、骨質と関節構造は基本的に保たれている。

a: 陽性対照群, b: 陰性対照群, c: 「通痺霊」群

図5 マウス関節骨破壊についての軟X線スコア
(軟X線所見による関節骨破壊スコア)

投薬8週目に陽性対照群は6.8、インドメサシン群は4.2、「通痺霊」群は2.9、SM-8849群は2.7であり、推計学的に「通痺霊」群とSM-8849群が陽性群に対して有意差を示した。

図6 抗II型コラーゲン抗体価(OD 1=1,000)

抗II型コラーゲン抗体価は「通痺霊」群とSM-8849群では低下が認められ、陽性対照群に比較して有意差を認めた。

図7 コラーゲン誘発関節炎マウスの病理学的所見
a:陽性対照群, b:「通痺霊」群
コラーゲン注射後12週目で陽性対照群の病理組織を観察したところ、関節の変形著明で、関節軟骨の変性、崩解した後に肉芽組織が増殖し、関節面の繊維性癒着が認められた。「通痺霊」群の関節病理組織切片は正常に近い関節が認められた。

⑤ マウス関節の病理組織を観察したところ、陽性対照群は関節の変形、軟骨の変性、破壊などの病変が著明であったのに対して「通痺霊」群の所見は明らかに軽減していた(図7)。

考 察

「通痺霊」の成分については、桂枝芍薬知母湯、桃仁、制乳香、制没薬、蝎、蛇、馬錢子など20種類余の生薬で構成される。そのうち、桂枝芍薬知母湯は中国での臨床経験において有効性が認められ、そのうえ日本でもRAに対して有効な常用漢方の一つになっている^{6,7)}。

また、中国での臨床薬理学的な研究によれば、桂枝芍薬知母湯は抗炎症・鎮痛作用のみならず、免疫調節作用もあることが報告されている⁸⁾。

一方、桃仁、制乳香、制没薬などは血液流動学(レオロジー)的に血液粘度や微小循環の障害(瘀

血)を改善する作用を有する⁹⁾。そして、蝎、蛇、馬錢子などは鎮痛効果が期待され、蝎はもっとも強い鎮痛作用が認められた。蛇も止痛効果を示すため、関節痛に使用されている。馬錢子には同じく疼痛を抑える作用や腫脹を抑える消炎作用があると報告されている。

「通痺霊」に関して中国のRA臨床治験をもう少し詳しく紹介すると、52例の入院RA患者に「通痺霊」単独投与した結果、平均2カ月間で関節の腫脹と疼痛などの症状およびリウマトイド因子、血沈や血清免疫学的指標などを改善した。総合評価では、52例のうち著効は12例(23%)、有効は16例(31%)、合計では54%が有効であり、本薬剤のRAに対する有効性が認められた。

そして、マウスのII型コラーゲン誘発関節炎を用いて検討した結果、「通痺霊」群はその誘発関節炎の発症率と関節炎スコアを顕著に抑制し、また、軟X線像の骨破壊スコアが減少した。関節の病理組織では、関節変形と軟骨破壊などの病変が明らかに軽減していた。

以上の事実から、本薬は抗炎症作用を有すると考えられた。

また、「通痺霊」群の血中抗II型コラーゲン抗体価が陽性対照群より、明らかに低下した。このことから、「通痺霊」は免疫抑制作用を持つことが示唆された。

結 語

「通痺霊」は中国廣州中医学院にて開発され、その臨床治験が同学院附属病院入院のRA患者を対象に実施され、その有用性が報告されている。今回のRA動物モデルを用いての研究で得た結果から、コラーゲン誘発関節炎の抑制が免疫調節剤と同等に認められること、また、「通痺霊」はII型コラーゲン誘発関節炎の発症を抑制することが認められた。以上より「通痺霊」はRA治療上有望な薬剤と考えられた。

しかしながら、本薬の作用機序について、これまでの研究では十分とはいえず、今後、さらに詳細に検討し解明する必要があると思われる。

文 献

- 1) 陳紀藩, 李頌華, 邱聯群: 慢性関節リウマチ52例に

- 対する「通痺靈」の臨床的観察. (中国)廣州中医学院学報 3 : 139-141, 1991.
- 2) 陳紀藩, 邱聯群: 「通痺靈」の慢性関節リウマチの血液流変学における作用. (中国)新中医 1 : 53-54, 1993.
- 3) Courtenay, J. S., Dallman, M. J., Dayan, A. D., Martin, A., Mosedaie, B.: Immunization against heterologous type II collagen induces arthritis in mice. *Nature* 283 : 666-8, 1980.
- 4) Abe, C., Nishikaku, F., Koga, Y.: Effects of SM-8849 on spontaneous arthritis in MRL/1 mice and type II collagen-induced arthritis in DBA/1J mice. *Immunotherapy* 1 : 1-8, 1991.
- 5) Stuart, J. M., Townes, A. S., Kang, A. H.: Nature and specificity of the immune response to collagen in type II collagen-induced arthritis in mice. *J. Clin. Invest.* 69 : 673-82, 1982.
- 6) 汪覆秋: 桂枝芍薬知母湯の RA に対する薬効検討. (中国)南京中医学院学報 4 : 18, 1983.
- 7) 田中大也: 慢性関節リウマチにおける漢方治療. *Pharma Medica* 2 : 70-8, 1988.
- 8) 張謨瑞: 慢性関節リウマチ 32 例に対する桂枝芍薬知母湯の臨床的分析. (中国)中医雜誌 1 : 38, 1981.
- 9) 程昭寰: RA に対する補腎活血治療の検討. (中国)遼寧中医雜誌 5 : 34, 1983.
- 10) 錢永益: RA の微小循環と血液粘度の観察および中医弁証. (中国)中西結合雜誌 5 : 28, 1985.
- 11) 婁多峰・他: RA 345 例の治療についての臨床的研究. (中国)河南中医雜誌 (5) : 2, 1985.
- 12) 難波恒雄: 蝎, 蛇, 馬錢子. 原色和漢薬図鑑. 保育社, 1980, (上)p 339, (下)p 259, 291.