原著

ラット・アジュバント関節炎における
漢方薬の作用——血清 Dipeptidyl Aminopeptidase IV の変化に対する
疎経活血湯、薏苡仁湯の作用——（第3報）唐 方 中西 由香 織田真智子
阿部 博子The Effect of Kampo Medicine in Rats with Adjuvant Arthritis ; The Effect of
Sokei-kakketsu-to and Yokuinin-to on Serum Dipeptidyl Aminopeptidase IVFang TANG Yuka NAKANISHI Machiko ORITA
Hiroko ABEM.D.s, The Research Institute of Oriental Medicine, Kinki University, 377-2, Onohigashi, Osaka-sayama-shi,
Osaka 589-8511, Japan

Abstract Rats with adjuvant arthritis (AA rats) show obvious inhibition of the local inflammation when steroids (DXM) are administered. But the contraction of thymic or adrenal atrophy, spleen hypertrophy, and reduction of activity of serum dipeptidyl aminopeptidase IV are recognized. In rats where Sokei-kakketsu-to or Yokuinin-to was administered, prominent anti-inflammatory effects like dexamethasone were not found ; however the contraction of thymic or adrenal atrophy, spleen hypertrophy, and reduction of activity of serum dipeptidyl aminopeptidase IV was not recognized. In addition, after withdrawal of drugs, rebound in regional joints did not occur as with steroids, and the reducing effect for arthrocele was prolonged. Therefore, it was concluded that those two formulations have an effect on the immune system—with anti-inflammatory effects for AA rats—and these action mechanisms are different from that of steroids (DXM).

Key words : adjuvant arthritis, rat, serum dipeptidyl aminopeptidase (DAPIV), steroid, Sokei-kakketsu-to, Yokuinin-to

Nihon Toyo Igaku Zasshi (Japanese Journal of Oriental Medicine), **49**(5), 805-815, 1999
(Accepted ; 16 Jul., 1998)

緒 言

第1, 2報ではアジュバント関節炎 (AA) ラ

ットに対する五種漢方処方（疎経活血湯、薏苡仁湯、桂枝加朮附湯、越婢加朮湯、柴苓湯）の中で、疎経活血湯、及び薏苡仁湯に滑膜急性炎症に対す

医, 近畿大学東洋医学研究所第I研究部門, 大阪, 〒589-8511 大阪狭山市大野東377-2
〔1998年7月16日受理〕

る抗炎症作用のあることが明らかになり、また、両方剤はAAラットにおける免疫異常を改善する作用のあることが示唆された。今回、これらの方剤の効果をステロイド剤 (Dexamethazone) と比較すると共に、投与期間中及び投与中止後の血清 Dipeptidyl Aminopeptidase IV (DAPIV) 活性の変化を測定した。

材料と方法

1. 実験動物及びアジュバント関節炎モデルの作成

前報と同様に Sprague-Dawley (SD) 系雌性ラット (6週齢, 体重130g前後) を使用し, 1群8匹として, 5群に分け, 1群当たり8匹として実験を行った。第1群は正常対照群 (NN), 第2～5群はアジュバント液 (A液) 注射群とし, 前報に従って, AAラットを作製した。第2群はAA対照群 (AA.C), 第3群は疎経活血湯投与群 (AA.S.K), 第4群は薏苡仁湯投与群 (AA.Y.Y), 第5群はDexamethazone投与群 (AA.DXM) とし, 対照群には蒸留水 1 ml を経口投与した。薬物投与群はA液注射日より15日目から2週間, 1日1回投与とした。漢方薬投与量は前報に順じた。Dexamethazone (DXM) 0.25mg/kg は筋肉内注射により投与した。A液注射後4週目で各々の薬物の投与を中止し, その後2週間経過を観察したのち, 屠殺した。

2. 血液学的検査

実験開始から経日的に頸静脈から採血し, 以下の測定を行った。

DAPIV活性の測定はU-2000形ダブルビーム分光光度計を用い, 血清50 μ l に34.5mM Glycylproline-p-nitroaniline (フナコシ株式会社) 100 μ l を基質とし, 160mM グリシルグリシンを含む150mM トリス・塩酸緩衝液 (pH7.9) 1000 μ l を加え, 波長410nm の rate assay で測定し, 37℃における国際単位で表した¹⁾。

シアル酸は極東シアル酸テストで, 酸可溶性糖蛋白 (ASGP: acid soluble glycoprotein) はASRO-GP アスプロ (大塚製薬) を使用し, アルブミンはブロムクレゾールグリーン法にて測定した。ま

た, 白血球数, 赤血球数, ヘモグロビン値, 血小板数などの血液像はK-800多項目自動血球計数装置 Sysmex によって測定した。

3. 足蹠容積測定法

前報の方法に従い, A液注射日より, 1日置きに両側後肢足体積を水置換により測定し, A液注射直前の後肢足容積を1.0とし, その後経時的に測定した足容積値よりその腫脹率を求めた。また, 注射後25, 27日の測定値の平均値を投与後足肢容積量とした。

4. 臓器重量測定法

実験開始4, 5, 6週目に実験ラットの脾臓, 胸腺, 副腎を摘出し, 臓器の湿重量を測定した。

5. 病理組織学的検索

実験開始4, 5, 6週目に実験ラットの左側後肢足蹠関節まで採取し, 10%ホルマリン固定したのち, 常法に従って包埋, 薄切して, HE染色し, 滑膜組織所見を光学顕微鏡にて観察した。

6. 統計処理

得られたデータは mean $\pm$ SD で表し, 統計処理ソフト Stat View を用い, Factorial 法で多群間の検定を行った。危険率5%以下の場合を有意差ありとした。

結 果

1. 足蹠関節局所の肉眼的所見

実験開始4週目のAA対照群に比べ, 各薬物投与群では, 注射側及び反対側の足蹠局所の発赤を伴う腫脹の軽減が認められ, 中でも, DXMを投与したラットの両後肢関節の腫脹は顕著に軽減された。漢方薬投与群の足蹠の腫脹の軽減は, A液非注射側である左後肢において著明であった。

2. 足蹠関節腫脹率に及ぼす影響

正常対照群に比べ, A液注射後2週目まで, 各群の足蹠関節の腫脹は著しく増大している。その後薬物を2週間投与することにより, 何れの群でも両側足蹠腫脹率に有意な ($P<0.01$) 軽減が認められた (Table 1)。

投与中止後6週目まで, AA.S.K投与群では足蹠関節部の腫脹の軽減が持続した。AA.Y.Y投与群では薬物投与の中止により足蹠関節部の腫脹は

対照群との間に有意差はなくなり、腫脹軽減作用は持続しなかった。また、DXM 投与群では、薬物投与の中止により足蹠の腫脹の抑制効果はなくなり、逆に腫脹率はAA 対照群に比し有意 ($P < 0.05$) に増大した (Fig. 1)。

3. DAPIV活性に及ぼす影響

実験開始4週目のDAPIV活性は、正常対照群に比べ、AA 対照群では有意 ($p < 0.01$) な低値を示し、DXM 投与群では改善はなく、AA 対照群とはほぼ同値を示した。ところが、AA.S.K、AA.Y.Y 投与群ではDAPIV活性の低下が有意 ($p < 0.05$) に改善され、DXM 投与群とは異なる作用が確認された (Fig. 2)。

次いで、投与中止後、AA 対照群におけるDAPIV活性の推移を見ると、4週目に比べ、5、6週目と順次回復してゆくが、6週目の値でも、正常対照群より有意 ($p < 0.01$) に低下している。それに対して、AA.S.K、AA.Y.Y では投与中止後のDAPIV活性の回復は顕著 ($p < 0.01$) で、6週目には、正常対照群とはほぼ同値にまで回復している。DXM 投与群では投与中止後、DAPIV活性の低下の回復は緩慢で、漢方薬投与群に比べ、有意 ($p < 0.01$) な低値を継続した (Table 2)。

4. 血清炎症指標に及ぼす影響

実験開始4週目のAA 対照群ではアルブミン値が有意 ($P < 0.01$) に低下し、シアル酸、ASGP 値は有意 ($P < 0.01$) な上昇を示した。

これに対して、DXM 投与群では、実験開始4週目のアルブミン値の低下、シアル酸、ASGP 値の上昇が何れも有意に抑制され、正常対照群とはほぼ同程度の値であったが、薬物投与中止後、アルブミン値がAA 対照群と同様に低下し、シアル酸、ASGP 値は有意 ($P < 0.01$) な上昇を示した。それに対して、AA.S.K、AA.Y.Y 投与群では、4週目にはDXM 投与群のような顕著な改善は認められなかったが、シアル酸、ASGP 値上昇の有意 ($P < 0.05$) な抑制は薬物投与を中止した後も持続し、投与中止後に、DXM 投与群で見られたようなリバウンド現象は認められなかった (Table 3)。

5. 血液像に及ぼす影響

実験開始4週目では正常対照群に比べ、AA 対

照群では、白血球、血小板数の有意な増加と共に、ヘモグロビン値の低下が認められ、5、6週目まで持続した。4週目のDXM 投与群では白血球数、血小板数、ヘモグロビン値は正常に近い値を示し、AA.S.K 投与群では白血球増加に対する抑制効果が認められた。投与中止後、いずれの薬物投与群でも、血液像に対する所見は経時的に正常値に近づき、悪化は認められなかった (Table 4)。

6. 臓器重量に及ぼす影響

実験開始4週目のAA 対照群では、広範囲な腹腔内の炎症性癒着、及び脾臓の肥大が顕著であり、6週目まで有意な改善は認められなかった。これに対して、DXM 投与群の腹腔内炎症は顕著に軽減され、脾臓重量についてはDXM 注射期間中は正常対照群に近い値を示したが、胸腺、副腎重量は有意 ($P < 0.01$) に低下した。しかし、薬物投与中止後、胸腺、副腎重量の低下は回復した ($P < 0.01$) が、脾臓重量は著明 ($P < 0.01$) に増加した。一方、AA.S.K、AA.Y.Y 投与群では、4週目の脾臓重量の増加が有意 ($P < 0.01$) に抑制され、薬物投与中止後にも臓器重量に影響を及ぼすことなく、DXM 投与群のような変化は認められなかった (Table 5)。

7. 病理組織所見に及ぼす影響

AA 対照群の発症後4週目の組織所見では、滑膜組織に血管の増生、リンパ球浸潤、滑膜組織の増殖の病変が顕著に見られた。それに対して、薬物投与群では炎症細胞の浸潤、血管病変所見は軽度であり、特に、DXM を投与したラットでは著しい改善が認められた。

薬物投与中止後、各群の組織所見を見てみると、DXM 投与群の滑膜の絨毛が再び乳頭状に増殖しており、炎症細胞の浸潤、リンパ球集団の形成、血管内膜の増殖が著明となり、4週目の所見に比べリバウンド現象が認められ、また、AA 対照群と同様の軟骨破壊への移行所見が見られた。AA.S.K、AA.Y.Y 投与群では、絨毛の粗大化が部分的にはほぼ正常に回復しており、滑膜の病変の程度も軽減された。特に、AA.S.K のラットでは軟骨への破壊は部分的に阻止されている所見が多数見られた (Fig. 3-5)。

Table 1 The Course of Inflammatory Changes in rats with adjuvant induced arthritis

	N	4 Weeks		5 Weeks		6 Weeks
		injected	uninjected	injected	uninjected	injected
Normal	8	0.98±0.13	0.79±0.09	0.97±0.31	0.79±0.27	0.97±0.27
AA.Control	8	6.79±2.80 ^a	3.77±0.52 ^a	5.95±2.30 ^a	3.77±0.24 ^a	5.74±1.47 ^a
AA.S.K- 2 W	8	3.29±1.08 ^{abc}	1.70±0.52 ^{abc}	2.47±0.87 ^{ab}	1.12±0.24 ^{ab}	2.67±1.32 ^{ab}
AA.Y.Y- 2 W	8	3.03±1.65 ^{abc}	1.97±0.75 ^{abc}	4.15±1.65 ^a	2.25±1.12 ^{ab}	4.17±2.23 ^a
AA.DXM- 2 W	8	2.10±0.43 ^{ab}	1.26±0.32 ^{ab}	3.51±0.83 ^{ab}	1.88±0.66 ^{ab}	4.32±2.40 ^{a*}

N indicates the number of rats. All values are expressed as the mean±S.D.

Significant difference from normal : a P<0.01. Significant difference from control : b P<0.01.

Significant difference from DXM : c P<0.05. Significant difference from 4 weeks : * P<0.01.

Fig. 1 The Course of hindpaw volume in the Adjuvant Induced Arthritis

■ Normal, ● AA.Control, ▲ AA.S.K-2W, ◆ AA.Y.Y-2W, □ AA.DXM-2W, ◀▶ medication term

考 察

前報では、AA ラットに対して五種漢方処方では、漢方薬投与開始時期及び投与期間の違いにより抗炎症効果の差があることが認められ、AA ラット炎症症状、血清シアル酸、ASGP 値の変動により疎経活血湯、薏苡仁湯に滑膜急性炎症に対する抗炎症作用のあることが確認された。また、両方剤

は抗炎症作用と共に免疫に対する作用もあることが推測された。本研究では、免疫学的側面より疎経活血湯、薏苡仁湯の役割を明らかにする目的で、血清 DAPIV 活性の変化を中心として検討した。

Dipeptidyl Amino peptidase IV (DAPIV) は N 末端の X-proline を水解するセリンプロテアーゼである。本酵素は各種臓器、血清、リンパ球に存在しており、疾患罹患の血清での変化は、肝胆疾患

uninjected
0.90±0.25
3.35±0.35 ^a
1.14±0.35 ^{ab*}
2.08±1.18 ^{ab}
1.91±0.69 ^{ab*}

Fig. 2 Serum DAPIV activity in rats with adjuvant Induced arthritis
**P<0.01, *P<0.05. Values are mean±S.D.

Table 2 Serum DAPIV activity in rats with adjuvant induced arthritis

	N	4 Week	N	5 Week	N	6 Week
Normal	8	23.75±4.98	5	26.60±5.94	8	26.13± 5.84
AA.Control	8	10.38±3.42 ^a	8	13.75±3.54 ^a	8	16.88±2.10 ^a
AA.Y.Y- 2 W	8	19.00±7.46 ^{bb}	7	21.71±7.30 ^{bb}	6	29.33±3.56 ^{bb}
AA.S.K- 2 W	8	15.75±4.65 ^{ab}	7	27.57±7.39 ^{bb}	6	27.50±5.47 ^{bb}
AA.DXM- 2 W	8	9.00±1.51 ^a	8	8.25±2.49 ^a	6	16.33±2.50 ^a

N indicates the number of rats. All values are expressed as the mean±S.D.
Significant difference from normal, a : P<0.01.
Significant difference from AA. Control, bb : P<0.01 ; b : P<0.05.

Table 3 Inflammatory Index Substance in rats with adjuvant induced arthritis

	N	Albumin(g/dl)			Sialic acid(mg/dl)	
		4 weeks	5 weeks	6 weeks	4 weeks	5 weeks
Normal	5	5.03±0.55	5.09±0.26	5.00±0.42	93.4±3.20	93.2±4.83
AA.Control	5	4.25±0.35 ^{aa}	4.22±0.35 ^{aa}	4.26±0.25 ^{aa}	124.6±11.99 ^{aa}	135.0±18.87 ^{aa}
AA.S.K- 2 W	5	4.64±0.32	4.55±0.45 ^a	4.52±0.37 ^{aa}	127.4±25.93 ^{aa}	105.8±1.99 ^{abb}
AA.Y.Y- 2 W	5	4.54±0.16 ^a	4.34±0.15 ^{aa}	4.24±0.28 ^{aa}	111.9±23.59	110.5±3.73 ^{aabb}
AA.DXM- 2 W	5	4.98±0.22	4.15±0.15 ^{aa}	4.27±0.19 ^{aa}	94.2±7.04 ^b	122.8±6.16 ^{aa}

N indicates the number of rats. All values are expressed as the mean±S.D.

Significant difference from normal, aa : P<0.01 ; a : P<0.05. Significant difference from AA.Control, bb : P<0.01

Table 4 Changes of WBC, RBC, Hb and PLT in rats with adjuvant induced arthritis

	N	WBC×10 ² /μl			RBC×10 ⁴ /μl ²	
		4 weeks	5 weeks	6 weeks	4 weeks	5 weeks
Normal	5	81.6±20.16	98.0±11.42	79.2±19.72	746.4±35.30	776.2±25.86
AA.Control	5	185.6±24.58 ^{aa}	188.2±28.53 ^{aa}	128.4±23.71	725.6±44.88	682.6±85.47 ^{aa}
AA.S.K- 2 W	5	130.2±27.10 ^{aab}	149.0±11.38 ^{aab}	122.2±30.53 ^a	742.8±58.51	713.8±39.89
AA.Y.Y- 2 W	5	163.0±33.96 ^{aa}	156.4±22.17 ^{aab}	132.6±69.87 ^a	712.6±29.18	724.4±23.32
AA.DXM- 2 W	5	97.2±17.31 ^b	101.4±13.30	74.6±32.00 ^b	742.8±119.59	770.0±42.70

N indicates the number of rats. All values are expressed as the mean±S.D.

Significant difference from normal, aa : P<0.01 ; a : P<0.05. Significant difference from AA.Control, b : P<0.01.

Table 5 Weight Change of Spleen, Thymus and Adrenal Glands in rats with adjuvant induced arthritis

	N	Spleen(g)			Thymus(g)	
		4 weeks	5 weeks	6 weeks	4 weeks	5 weeks
Normal	5	0.52±0.05	0.58±0.09	0.59±0.09	0.45±0.05	0.43±0.06
AA.Control	5	0.97±0.12 ^a	0.98±0.18 ^a	0.88±0.05 ^a	0.45±0.10	0.52±0.10
AA.S.K- 2 W	5	0.79±0.12 ^{ab}	0.84±0.07 ^a	0.81±0.11 ^a	0.41±0.05	0.53±0.11
AA.Y.Y- 2 W	5	0.73±0.14 ^{ab}	0.88±0.10 ^a	0.78±0.15 ^a	0.41±0.04	0.48±0.09
AA.DXM- 2 W	5	0.46±0.12 ^b	0.62±0.05 ^b	0.78±0.09 ^a	0.09±0.01 ^{ab}	0.24±0.04 ^{ab}

N indicates the number of rats. All values are expressed as the mean±S.D.

Significant difference from normal, a : P<0.01. Significant difference from AA.Control, b : P<0.01.

においては上昇, 慢性関節リウマチ (RA)²⁾³⁾, 全身性エリテマトーデス (SLE)⁴⁾, 肝癌以外の癌及び血液腫瘍では活性低下を示している。今回用いた AA ラットの発症機序は, 関節炎惹起物質である結核菌菌体成分に特異的に反応する感作 T リ

ンパ球によって, ラット関節軟骨プロテオグリカンに起きた自己免疫交差反応である⁵⁾。また, AA の誘発性は CD4 陽性 T リンパ球に参与しているので, AA 惹起と共に血清 DAPIV 活性は正常ラットの59%に低下した。また, 血清 DAPIV 活性は

ASGP(mg/dl)			
6 weeks	4 weeks	5 weeks	6 weeks
90.3±7.41	274.0±16.7	300.0±58.3	288.0±30.3
114.9±11.97 ^{aa}	904.0±81.6 ^{aa}	932.0±76.3 ^{aa}	788.0±37.2 ^{aa}
108.1±8.58 ^a	640.0±42.9 ^{aab}	497.9±60.8 ^{abbc}	564.0±66.2 ^{aabb}
105.4±10.90	964.0±58.5 ^{aab}	564.0±19.4 ^{aabbc}	596.0±66.5 ^{aab}
118.7±18.71 ^{aa}	376.0±13.3 ^b	940.0±60.7 ^{aa}	808.0±60.1 ^{aa}

; b : P<0.05.

Hb g/dl				PLT×10 ⁴ /μl		
6 weeks	4 weeks	5 weeks	6 weeks	4 weeks	5 weeks	6 weeks
745.2±19.46	16.2±0.26	16.3±0.59	15.8±0.72	118.4±1.98	105.9±14.63	102.7±11.57
725.6±76.42	14.5±0.98 ^{aa}	14.3±0.53 ^{aa}	15.3±0.49	169.9±16.42 ^a	161.2±10.26 ^{aa}	148.3±16.88 ^{aa}
758.6±34.25	15.0±0.91	14.7±0.71 ^{aa}	15.2±0.54	164.0±14.57 ^a	105.9±2.14 ^b	129.9±19.95 ^a
751.0±92.34	13.7±1.00 ^{aa}	14.2±0.31 ^{aa}	15.1±2.31	171.2±16.53 ^a	138.2±47.09 ^a	135.6±33.12
705.0±100.87	15.6±1.82	14.9±0.79 ^{aa}	15.2±1.59	137.1±39.19	135.4±12.59	128.7±15.12

Adrenal(mg)			
6 weeks	4 weeks	5 weeks	6 weeks
0.45±0.10	32.0±2.47	33.0±3.59	34.0±2.70
0.49±0.09	35.0±4.01	32.0±4.45	37.0±3.91
0.42±0.03	38.0±4.42	31.0±1.06	34.0±5.20
0.44±0.11	34.0±7.95	35.0±4.14	32.0±3.93
0.32±0.05 ^{ab}	21.0±3.37 ^{ab}	25.0±2.59 ^{ab}	29.0±4.25 ^b

関節腫脹，血清炎症指標との関連が確認され，本酵素の変化はAAの病態を反映する指標となることが認められた⁶⁾。すなわち，人と実験動物モデルに共通する血清の活性低下を示す疾患は何れも自己免疫の成立と細胞性免疫能抑制の関与を示唆

していることから，本酵素の免疫応答システムにおける位置づけが注目されている。

本研究において，AA対照ラットの炎症反応が進行期段階にある4週目には血清DAPIV活性は正常対照ラットの43.7%に低下し，5，6週目に

Fig. 3 a~d: AA 対照群 (×50倍)

- a: 滑膜の絨毛は乳頭状に増殖している (▼印) 及び部分的に回復した所見 (↓印) が見られる。
 b: 炎症細胞の浸潤, リンパ球の集団化 (▼印) 及び細胞の壊死 (↓印) が認められる。
 c: 滑膜表面にはフィブリン (↓印) が析出しており, 血管内膜の求心性増殖が見られる (▼印)。
 d: 軟骨破壊がみられる (↓印)。

は51.7%, 64.6%と順次回復してゆく。DXM 投与ラットでは, 4週目に正常ラットの37.9%に低下し, 脾臓を始め, 胸腺, 副腎重量がAA対照ラットより更に低下することが認められた。その原因としては, 一般に, ステロイド剤は胸腺皮質に存在する short-lived の cell population を障害することが知られており, その結果CD4リンパ球の機能が変化することによって, DAPIVの血流中への放出が低下するものと推測される。これに対して, 疎経活血湯, 薏苡仁湯を投与した4週目では胸腺, 副腎への影響がなく, 脾臓肥大が抑制され, 血清DAPIV活性の低下も各々66.3%, 80%に抑えられ, DXMとは明らかに異なる作用が確認された。また, 投与中止後の6週目には, DXMを投与したラットの血清DAPIV活性は, 正常対照ラットの62.5%に回復したのに対して, 疎経活血

湯, 薏苡仁湯は105.2%, 112.2%となり, 顕著な回復作用が認められた。

笠原らは健康者血清を電気泳動することによって, DAPIVの臓器由来はDAPIVが多量に存在する肝, 腎の画分ではなく, リンパ球であることを明らかにした。即ち, 血清酵素は主にリンパ球に由来すると考えられる⁷⁸⁾。文献的にはリンパ球のDAPIVは大部分がCD4陽性T細胞に存在し⁹⁾, DAPIVはTリンパ球の活性化に関与して, 特にDAPIV/CD4陽性リンパ球はIL-2産生機構に関与する¹⁰⁾と報告されている。CD4はT細胞分化抗原として古くから知られてきたが, 佐藤らは滑膜組織内にリンパ球集簇領域ではCD4陽性T細胞(T4)が優位であることを認め¹¹⁾, また, T4及び隣接して増殖する滑膜細胞はHLA-DR抗原を発見していることより, T4と滑膜細胞との間

Fig. 4 a~d: DXM 投与群 (×50倍)

- a: 絨毛が粗大化し (▼印), 滑膜細胞の多層化 (▼印) 及び炎症細胞の浸潤 (↓印) が認められる。
 b: リンパ球の集団化が顕著である (▼印)。
 c: 滑膜表面にフィブリンが析出しており (↓印), 血管病変の改善 (▼印) は認められなかった。
 d: 軟骨破壊が見られる (↓印)。

に免疫応答が行われる可能性が示唆される¹²⁾。本実験では漢方薬のリンパ球内での作用機序は不明であるが、血清 DAPIV の変化、免疫臓器への影響を考慮すると、今回用いた漢方薬の AA における免疫系の改善作用は CD4 リンパ球の増殖分化に関与している可能性が考えられ、また、血清 DAPIV の動態が AA の病態を反映することより、血清本酵素の変化は CD4 リンパ球の機能を反映する指標となる可能性も示唆される。

前報では、AA ラット炎症症状、血清シアル酸、ASGP 値の変動により疎経活血湯、薏苡仁湯に AA ラット滑膜急性炎症及び全身状態に対する抗炎症作用が認められた。本実験では、ステロイド剤と比較して、この作用及び継続性について更に検討したところ、疎経活血湯、薏苡仁湯は 4 週目の足蹠腫脹率、腹腔内の炎症性癒着、血清炎症指標に

対して、DXM のような顕著な抗炎症効果は認められなかったが、投与を中止した後も継続的に腫脹は抑制されており、ステロイド剤のようなリバウンド現象は認められなかった。また、今回実験結果では述べていないが、DXM を投与したラットでは、胸腺、副腎が萎縮すると共に体重増加率の継続的な低下が見られた。AA 対照ラットの 3, 4, 5 週目の体重増加率が 118.30%, 113.99%, 131.50% であるのに比べ、DXM を投与したラットの体重は、3 週目から顕著に低下し (3 週目 109.54%, 4 週目 107.59%; $P < 0.05$), 投与中止後の 5 週目まで (106.48%) 持続することが認められた。これに対して、疎経活血湯及び薏苡仁湯を投与したラットでは体重増加率は AA 対照ラットと同様に正常対照ラットとの間に有意な差が見られず、免疫臓器への影響も認められなかった。

Fig. 5 a~d: AA.S.K 投与群 (×50倍)

- a: 部分的には滑膜絨毛がほぼ正常に回復される (↓印)。
 b: 炎症細胞の浸潤の軽減が継続される (▼印)。
 c: 血管病変は持続的に改善されているが (▼印), 絨毛の粗大がまだ一部残っている (↓印)。
 d: 軟骨の破壊は部分的に阻止される (↓印)。

従って、ステロイド剤と漢方薬の全身状態への影響でも血清指標と同様明らかに異なることが認められた。

一方、ヒト RA 滑膜病変の病理組織学的特徴の一つであるリンパ球浸潤は滑膜病変形成及び進展には密接に関連している¹¹⁾¹²⁾。本研究で、AA ラットの滑膜における浸潤細胞を光顕的に観察したところ、AA 対照ラットではヒト RA と同様に炎症細胞浸潤、リンパ球集簇の形成が顕著に見られた。それに対して、薬物を投与したラットでは何れも滑膜組織における炎症細胞、リンパ球浸潤の所見が減少した。特に、DXM を投与したラットでは著しい改善が認められたが、この作用は、投与中止後著明に弱くなり、前述の血清所見に見られるようなリバウンド現象が組織にも認められた。疎経活血湯、薏苡仁湯はリンパ球浸潤による血管

の増生、滑膜細胞の増殖を改善し、投与中止後も同様の所見が継続して観察された。

これらの結果より、AA ラットに対する疎経活血湯、薏苡仁湯の作用は、ステロイド剤 (DXM) の作用機序と明らかに異なることが認められる。従って、実際の臨床ではステロイド剤と漢方薬のそれぞれの作用の特徴を十分に把握した上で、それぞれの利点を生かした併用療法が最も望ましいと思われる。

今後 AA ラットにおける滑膜組織の免疫組織免疫学的検討を行い、漢方薬のリンパ球内での作用について追求する予定である。

文 献

- 1) 太田拔徳, 宮本元昭, 他: Glycyl-Prolyl-4-Nitroanilidase (GPNAase) 活性測定法の基礎的検

- 討, 臨床病理, **25** 補冊, 165 (1977)
- 2) 和合健二, 加来秀彦: 慢性関節炎リウマチ患者の Glycylprolyl β -naphthylamidase 活性について, 医学のあゆみ, **101**, 717-720 (1977)
 - 3) Wago K, Okazaki K, Yoshida K, et al: Serum glycylproline P-nitroanilidase activity in rheumatoid arthritis. The Ryumachi **18**, 231-238 (1978)
 - 4) Fujita K, Hirano M, Ochiai J, et al: Serum glycylproline P-nitroanilidase activity in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. Clin Chim Acta **88**, 15-20 (1978)
 - 5) Van Eden W, Holoshitz J, Nevo Z, et al: Arthritis induced by a T-lymphocyte clone that responds to Mycobacterium tuberculosis and to cartilage proteoglycans. Proc Natl Acad Sci. USA. **82**, 5117-5120 (1985)
 - 6) 加来秀彦: ヒト末梢血リンパ球の Dipeptidyl Aminopeptidase (DAPIV) の研究, 日本臨床免疫学会誌, **11**, 283-292 (1988)
 - 7) Kasahara Y, Fujii N, Mizukoshi M, et al: Multiple forms of glycylprolyl dipeptidyl aminopeptidase in serum and tissues. Jap J Clin Chem. **12**, 89-93 (1983)
 - 8) Kasahara Y, Fujii N, Mizukoshi M, et al: Glycylprolyl-diaminopeptidase in human leukocytes: selective occurrence in T lymphocytes and influence on the total serum enzyme activity. Clin Chim Acta. **139**, 295-302 (1984)
 - 9) Wirthmuller R, Dennig D, Oertel J, et al: Dipeptidyl aminopeptidase (DAPIV) activity in normal and malignant T-cell subsets as defined by monoclonal antibodies. Scand J Haematol. **31**, 197-205 (1983)
 - 10) Scholz W, Ulmer AJ, Feller AC, et al: Characterization of human IL-2 producing T lymphocytes using double fluorescence gated cells sorting with Leu 3a and dipeptidylpeptidase (DPIV) monoclonal antibodies. Immunobiology. **167**, 264-265 (1984)
 - 11) 佐藤和人, 西岡久寿樹: 滑膜組織に浸潤するリンパ球の果たす役割, 臨床免疫 **21**, 66-73 (1989)
 - 12) Klareskog, L., Forsum, U., et al: Evidence in support of a self-perpetuating HLA-DR dependent delayed-type cell reaction in rheumatoid arthritis. Proc. Natl. Acad. Sci., **79**, 3632 (1982)

要旨 AA 関節炎ラットにステロイド剤 (DXM) を投与すると, 局所の炎症は明らかに抑制されるが, 胸腺, 副腎の萎縮, 脾臓の肥大, 血清 DAPIV 活性の低下が認められる。疎経活血湯, 薏苡仁湯ではデキサメサゾンのような顕著な抗炎症効果は認められなかったが, 胸腺, 副腎の萎縮, 脾臓の肥大, 血清 DAPIV 活性の低下は認められなかった。また, 薬物投与中止後, ステロイド剤のような関節局部におけるリバウンド現象が起こらず, 局部腫脹の軽減作用が持続した。従って, 両方剤は, AA ラットの抗炎症作用と共に, 免疫系に対する作用が認められ, ステロイド剤 (DXM) とは作用機序が異なることが確認された。

キーワード: アジュバント関節炎, ラット, 血清 Dipeptidyl Aminopeptidase IV (DAPIV), ステロイド, 疎経活血湯, 薏苡仁湯