

氏名	まつもと たかし 松本 隆志		
学位の種類	博士（薬学）		
報告番号	乙第 1678 号		
学位授与の日付	平成 29 年 3 月 21 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当（論文博士）		
学位論文題目	十味敗毒湯の尋常性痤瘡改善作用とその作用機序に関する研究		
論文審査委員	(主 査) 福岡大学	教授	岩崎 克典
	(副 査) 福岡大学	教授	片岡 泰文
	福岡大学	教授	金城 順英
	福岡大学	教授	三島 健一

内 容 の 要 旨

尋常性痤瘡（ニキビ）は、思春期に多く発症し、軽症のものを含めると成人の 90%以上がこの疾患を経験している。尋常性痤瘡は前段階の微小面皰を起点として非炎症性皮疹及び炎症性皮疹へと進行する。ニキビは軽症（非炎症性皮疹）でも見た目に現れ、重症化により瘢痕形成にも至ることから、痤瘡患者の生活の質（Quality of life : QOL）を低下させる。

現在のニキビ治療には、毛包角化正常化剤、皮脂腺機能阻害剤、抗菌剤及び抗炎症剤が主に使用されている。しかし、面皰形成から炎症皮疹が混在する個々の病変では、炎症抑制などの対症療法に加え抗菌・殺菌・抗男性ホルモンなどの発症に対する原因療法が併用される。

本論文に取り上げた十味敗毒湯は、10 種の生薬（桔梗、柴胡、川芎、茯苓、樸楸、独活、防風、甘草、荊芥、生姜）から構成される漢方薬であり、化膿性皮膚疾患・急性皮膚疾患などに処方され、ニキビ患者の皮疹改善に用いられている。十味敗毒湯は、西洋薬が単一効果を示すのに対し、多成分系薬剤であることから毛包角化抑制、皮脂分泌抑制、抗テストステロン代謝作用、抗酸化・抗炎症作用及び炎症性細胞遊走作用など多様な作用が示唆されている。しかし、残念ながらこれらのメカニズムは主に漢方薬（合剤）エキスの *in vitro* 実験に基づくものであり、効果はあってもそれを裏付ける活性成分やその血中移行性などの薬理機序を証明した科学的エビデンスがまだ伴っていないのが現状である。

そこで、本研究では「十味敗毒湯の尋常性痤瘡改善作用とその作用機序」を解明するため、アクネ菌誘発痤瘡モデルを用いた薬効研究（第 1 章）、抗テストステロン代謝、皮脂合成抑制、抗酸化・抗炎症反応及びマクロファージ集簇作用を含めた作用機序研究（第 2 章）、及びそれらの薬効メカニズムを担う活性成分の同定とその血中薬物動態（第 3 章）を詳細に検討し、以下の新知見を得た。

1. 第1章では、十味敗毒湯がアクネ菌誘発瘡瘍様慢性炎症に対し改善作用を有することを耳介腫脹及びその病理組織像から実証した(図1)。また、耳介の病理組織像からマクロファージ集簇・食食促進作用などの関与が示唆された。

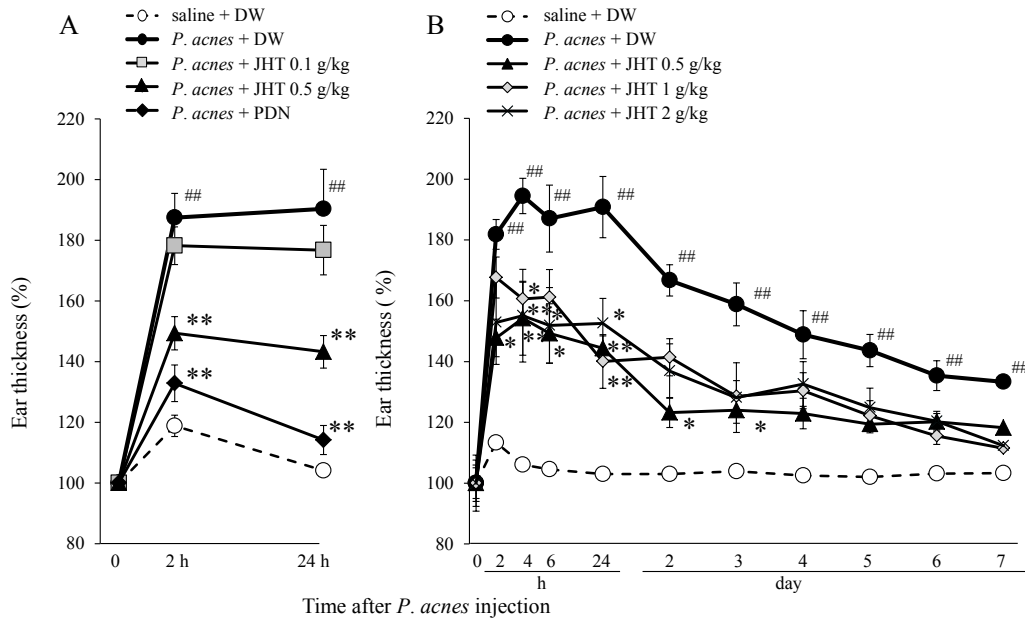


図1. 十味敗毒湯のアクネ菌誘発耳介腫脹抑制作用

アクネ菌 (*P. acnes*, 0.14 mg/50 μ L/ear) 又は生理食塩水 (saline, 50 μ L/ear) は耳介表側に皮内注射した。十味敗毒湯 (JHT, 0.1, 0.5, 1 及び 2 g/kg) 又は蒸留水 (DW) は、菌注入の1時間前及び注入後 6、24 時間、更に 2、3、4、5 及び 6 日後に経口投与した。陽性対照薬として用いたプレドニゾン (PDN, 10 mg/kg) も同様に投与した。耳介の厚さは、菌注射の 0 (投与前)、2、4、6、24 時間後、及び 2、3、4、5、6、7 日後に測定した。耳介腫脹率 (%) は、各ラットの菌注入前値に対する百分率で示した。全ての値は平均値 \pm 標準誤差 (図 3A : n = 10、図 3B : n = 6-7) で示した。## p < 0.01 vs. コントロール (saline + DW) 群、* P < 0.05 及び** P < 0.01 vs. アクネ菌 (*P. acne* + DW) 群 (two-way repeated measures ANOVA + Bonferroni test)。

2. 第2章では、作用機序について図2に示す以下の知見を明らかにした。

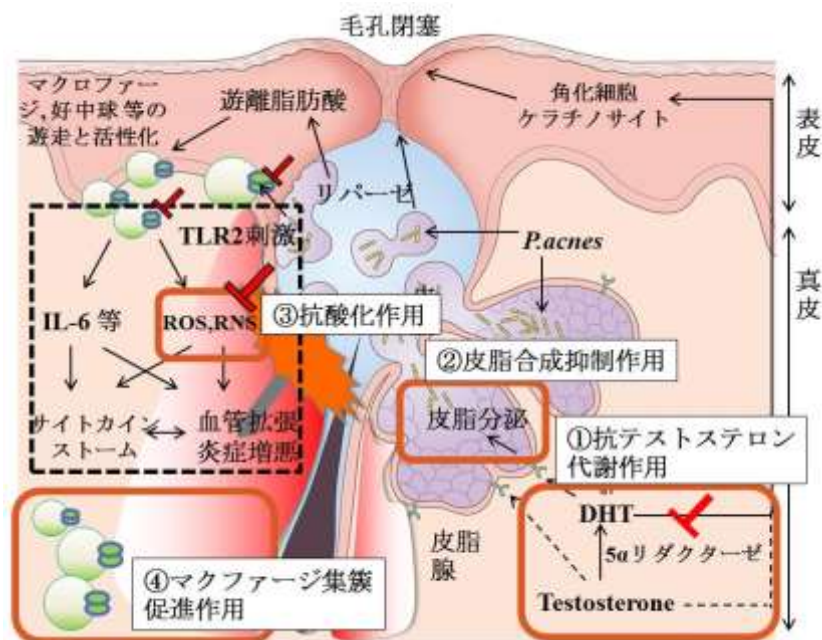


図2. 尋常性痤瘡治療における十味敗毒湯の各作用点

- ① 抗テストステロン代謝について、構成生薬の一つであるボクソクが十味敗毒湯の5αリダクターゼ活性阻害を担う活性生薬であり、その作用には9種のタンニン成分が関与し、その中でペンタガロイルグルコースが最も強い活性成分であることを明らかにした。
- ② 皮脂合成抑制作用について、ボクソク及びペンタガロイルグルコースはテストステロン及びインスリン誘発皮脂合成を阻害した。その作用は5αリダクターゼ阻害作用に加え、新たに酵素阻害非依存的な作用がある可能性を示唆した。
- ③ 抗酸化・抗炎症反応について、十味敗毒湯の抗炎症作用にはカンゾウ成分（リクイリチゲニン、イソリクイリチゲニン、ジェニステイン）及びそれらのA環抱合体（liquiritigenin 7-O-glucuronide、isoliquiritigenin 2'-O-glucuronide、isoliquiritigenin 4'-O-glucuronide、genistein 7-O-glucuronide）並びにケイガイ成分（ヘスペレチン）及びそのA環抱合体（hesperetin 7-O-glucuronide）の抗活性酸素種（ROS）作用、及びボクソク由来成分4-O-methylgallic acidの抗活性窒素種（RNS）作用が関与している可能性を見出した（図3）。

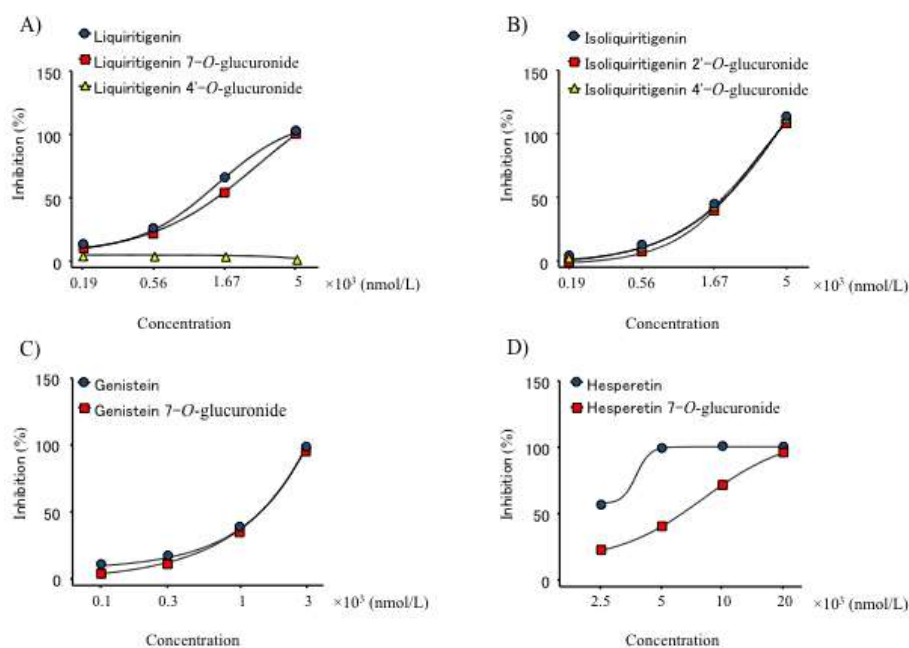


図 3. フラボノイド成分とそのグルクロン酸抱合体の抗酸化活性比較

ROS (過酸化水素) に対する抗酸化作用は OxiSelect *In vitro* ROS/RNS Assay kit を用いて測定した。各値 (抗酸化率%) は、 $\text{平均値} \pm \text{標準誤差}$ ($n = 3$) で示した。

④ 炎症性皮疹の組織修復促進作用について、十味敗毒湯投与による膿瘍周囲のマクロファージ集簇促進作用は、炎症病巣に引き寄せられた単球のマクロファージへの分化増強作用によるものであり、その作用にはカンゾウフラボノイドのリクイリチゲニン及びイソリクイリチンが活性成分として見出された。

3. 第 3 章では、十味敗毒湯のエキス中成分含量及び投与ラットの血漿中成分定量を行い、十味敗毒湯のエキス中にはフラボノイドやタンニン類が豊富に含まれていることを明らかにした。これら成分を含む十味敗毒湯をラットに経口投与したところ、その血漿中には、活性成分として推定したフラボノイド及び活性代謝物に加え、図 3 に記載したアグリコンと同等の活性を示すフラボノイド-グルクロン酸抱合体が検出された (図 4)。これらの結果は、これまで検証した十味敗毒湯の尋常性痤瘡に対するメカニズムの多様性を担う活性成分として、これらの成分が十味敗毒湯の作用を担っている可能性を強く支持した。

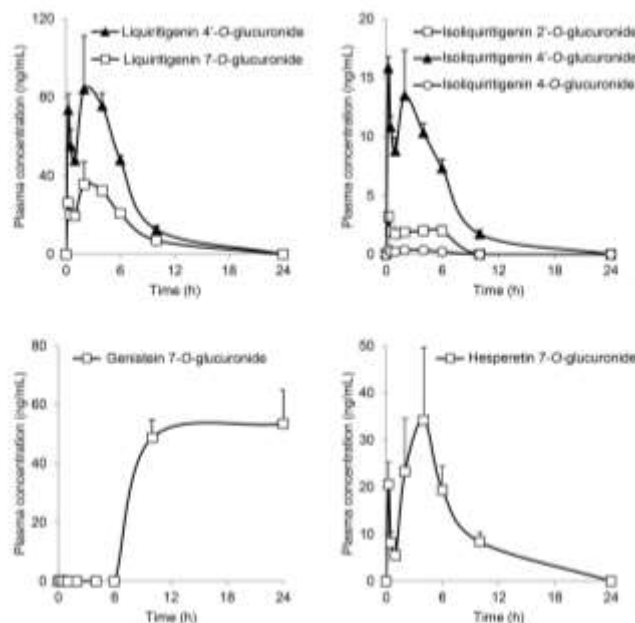


図4. 十味敗毒湯投与ラットにおける血漿フラボノイド-グルクロン酸抱合体の濃度推移

リクイリチゲニン(liquiritigenin)、イソリクイリチン(isoliquiritigenin)、ゲニステイン(genistein)及びヘスペレチン(hesperetin)の血漿グルクロン酸抱合体濃度は、十味敗毒湯(2 g/kg)を経口投与した0.25、0.5、1、2、4、6、10及び24時間後の血漿を用いて定量した。各データは平均値±標準誤差で示した(n = 3)。

以上、尋常性痤瘡に対する十味敗毒湯の治療効果には、多成分系で構成される漢方薬特有の多様なメカニズムが関与し、病態の発症と進行の各ステージに薬効を示す可能性がある(表1)。

表1. 尋常性痤瘡治療における十味敗毒湯の作用と活性成分

十味敗毒湯作用	活性生薬	活性成分
① 抗テストステロン代謝作用	ボクソク	ペンタガロイルグルコース
② 皮脂合成抑制作用	ボクソク	ペンタガロイルグルコース
③ 抗酸化(抗ROS及び抗RNS作用)	カンゾウ ケイガイ ボクソク	フラボノイドと活性型グルクロン酸抱合体及び4-O-メチル化没食子酸
④ マクロファージ集簇促進作用	カンゾウ	リクイリチゲニン及びイソリクイリチン

本研究で解明した十味敗毒湯の作用機序は、既存のニキビ治療薬とは全く異なるユニークな作用である。本研究の成果は、今後の更なる研究の基盤になると共に、尋常性痤瘡に悩んでいる多くの患者の治療に貢献するものと考えられる。

審査の結果の要旨

尋常性痤瘡（ニキビ）は、思春期に多く発症し、軽症のものを含めると成人の90%以上がこの疾患を経験している。現在のニキビ治療には、毛包角化正常化剤、皮脂腺機能阻害剤、抗菌剤及び抗炎症剤が主に使用されている。しかし、面皰形成から炎症皮疹が混在する個々の病変では、炎症抑制などの対症療法に加え抗菌・殺菌・抗男性ホルモンなどの発症に対する原因療法が併用される。十味敗毒湯は、10種の生薬（桔梗、柴胡、川芎、茯苓、樸椒、独活、防風、甘草、荊芥、生姜）から構成される漢方薬であり、化膿性皮膚疾患・急性皮膚疾患などに処方され、ニキビ患者の皮疹を改善に用いられている。十味敗毒湯は、西洋薬が単一効果を示すのに対し、多成分系薬剤であることから毛包角化抑制、皮脂分泌抑制、抗テストステロン代謝作用、抗酸化・抗炎症作用及び炎症性細胞遊走作用など多様な作用が治療に関与している。しかし、残念ながらこれらのメカニズムは主に漢方薬（合剤）エキスの *in vitro* 実験に基づくものであり、効果はあってもそれを裏付ける活性成分やその血中移行性などの薬理機序を証明した科学的エビデンスがまだ伴っていないのが現状である。そこで、本研究では「十味敗毒湯の尋常性痤瘡改善作用とその作用機序」を解明するため、アクネ菌誘発痤瘡モデルを用いて薬理的及びそれらの薬効メカニズムを担う活性成分の同定とその血中薬物動態を詳細に検討し以下の新知見を得た。

第1章では、十味敗毒湯がアクネ菌誘発痤瘡様慢性炎症に対し改善作用を有することを耳介腫脹及びその病理組織像から実証した。その作用機序として抗炎症作用及びマクロファージ集簇・食食促進作用などの関与を示唆した。

第2章では、作用機序について図1に示す以下の知見を明らかにした。抗テストステロン代謝について、構成生薬の一つであるボクソクが十味敗毒湯の5 α リダクターゼ活性阻害を担う活性生薬であり、その作用には9種のタンニン成分が関与し、その中でペンタガロイルグルコースが最も強い活性成分であることを明らかにした。皮脂合成抑制作用について、ボクソク及びペンタガロイルグルコースはテストステロン及びインスリン誘発皮脂合成を阻害した。その作用は5 α リダクターゼ阻害作用に加え、新たに酵素阻害非依存的な作用がある可能性を示唆した。抗酸化・抗炎症反応について、十味敗毒湯の抗炎症作用にはカンゾウ成分（リクイリチゲニン、イソリクイリチゲニン、ジェニステイン）及びそれらのA環抱合体（liquiritigenin 7-O-glucuronide、isoliquiritigenin 2'-O-glucuronide、isoliquiritigenin 4'-O-glucuronide、genistein 7-O-glucuronide）並びにケイガイ成分（ヘスペレチン）及びそのA環抱合体（hesperetin 7-O-glucuronide）の抗活性酸素種（ROS）作用、及びボクソク由来成分 4-O-methylgallic acid の抗活性窒素種（RNS）作用が関与している可能性を見出した。炎症性皮疹の組織修復促進作用について、十味敗毒湯投与による膿瘍周囲のマクロファージ集簇促進作用は、炎症病巣に引き寄せられた単球のマクロファージへの分化増強作用によるものであり、その作用にはカンゾウフラボノイドのリクイリチゲニン及びイソリクイリチンが活性成分として見出された。

第 3 章では、十味敗毒湯のエキス中成分含量及び投与ラットの血漿中成分定量を行い、十味敗毒湯のエキス中にはフラボノイドやタンニン類が豊富に含まれていることを明らかにした。これら成分を含む十味敗毒湯をラットに経口投与したところ、その血漿中には、活性成分として推定したフラボノイド、活性代謝物及びグルクロン酸抱合体が検出された。これらの結果は、これまで検証した十味敗毒湯の尋常性痤瘡に対するメカニズムの多様性を担う活性成分として、これらの成分が十味敗毒湯の作用を担っている可能性を強く支持した。

以上、本研究によりこれまで科学的エビデンスが不十分であった十味敗毒湯の尋常性痤瘡に対する治療効果には、多成分系で構成される漢方薬特有の多様なメカニズムが発症の各進行ステージで寄与していることが実証された。本研究では上述した新知見が見出された一方で、まだ解決しなければならない新たな課題も明らかになった。本研究の成果は今後の更なる研究の基盤になると共に、医師をはじめとする医療関係者に最新知見として理解され、尋常性痤瘡に悩んでいる多くの患者の治療に貢献するものと考えられる。

上記の内容に関して、その独創性・新規性、論文投稿、さらには公聴会での質疑に対する能力を鑑みた上で、本論文は本学薬学研究科の博士学位論文として認定出来ると判断した。