

II-C-10

清熱薬による炎症性サイトカイン mRNA の抑制と増強 — ケラチノサイトを用いた実験系 —

和歌山県立医科大学 皮膚科学教室

○廣井健治、松中成浩

【目的】清熱薬の作用機序の一つとして抑制性サイトカインの産生亢進あるいは、炎症性サイトカインの産生抑制が考えられる。ケラチノサイトは炎症性及び抑制性サイトカインの両者を発現する。従って、リンパ球のみならずケラチノサイトにおいても、上記の仮説はそのまま当てはまる。今回炎症性皮膚疾患によく用いられる清熱薬をケラチノサイトに作用させ、抑制性および炎症性サイトカイン mRNA の発現を検討した。

【方法】細胞：マウスケラチノサイト由来株 PAM212 cell は 5 %FCS 加 MEM で培養し使用。漢方薬：十味敗毒湯、黄連解毒湯、消風散、治頭瘡一方、柴胡清肝湯を使用し、常法により溶解。漢方薬の PAM212 細胞増殖に及ぼす影響：96well plate に前培養した PAM212 細胞に上記漢方薬を MEM で希釈し添加。72 時間後 Cell Counting Kit (同仁化学) によって細胞数を測定。RNA の抽出：細胞を dish に培養。培養液を捨て、MEM で $10 \mu\text{g/ml}$ に希釈した漢方薬を含んだ培養液に交換、再度 24 時間培養後、total RNA を抽出。RT-PCR：total RNA より cDNA を合成後次の primer を用いた PCR を施行。 β actin、IL10、IL1 α 、TNF- α 、IL1 receptor antagonist (IL1RA)。

【結果】漢方薬の PAM212 細胞増殖に及ぼす影響：いずれの漢方薬も $100 \mu\text{g/ml}$ の濃度で細胞増殖を著明に抑制した。 $10 \mu\text{g/ml}$ から 5 ng/ml まではほぼ一定で 10~20% 程度細胞増殖を抑制した。柴胡清肝湯のみ $10 \mu\text{g/ml}$ ~ 100 ng/ml の濃度では対照との間に差がなかった。サイトカイン mRNA の発現：全ての漢方薬で IL10 mRNA の発現は誘導されず。IL1 α mRNA は十味敗毒湯、黄連解毒湯、治頭瘡一方、柴胡清肝湯で発現が減弱。TNF- α mRNA は十味敗毒湯、消風散でやや増強、黄連解毒湯で減弱。全ての漢方薬で IL1RA mRNA は変化せず。

【考察】今回用いた清熱薬の中で IL1 α を最も強く抑制したのは治頭瘡一方であった。また TNF- α 抑制効果は黄連解毒湯のみに認められた。この両者は構成生薬が重複しないことより、合方の臨床応用が可能であろう。十味敗毒湯は IL1 α は抑制したが、TNF- α はむしろ増強した。十味敗毒湯は皮疹を一時的に悪化させることがあるが、あるいは、この TNF- α 増強が関係しているのかもしれない。消風散の消炎効果は今回の結果からは説明できない。むしろ TNF- α を介して悪化させる可能性があると言えよう。今後更に様々な面からの検討が必要と思われる。