

# 原 著                    マウスのアレルギー性皮膚炎に対する 3種生薬配合エキスの影響

昭和大学医学部第一薬理学教室

山 浦 卓 小口 勝司

昭和大学保健医療学部作業療法学科

中山 貞男

要約：オキサゾロン (Oxa) 誘発アレルギー性皮膚炎に対するヨモギ (Gaiyo: G), ドクダミ (Juyaku: J) とクマザサ銅置換クロロフィル抽出残渣 (SCER) の作用を検討した。BDF<sub>1</sub>系雌性マウスを用いてOxa感作後、0.5% Oxa-アセトン・オリーブ油溶液 20  $\mu$ lを両耳介の内側に反復塗布して、アレルギー性皮膚炎を誘発した。Oxa反復塗布によりBDF<sub>1</sub>系雌性マウスに誘発したアレルギー性皮膚炎はアトピー性皮膚炎モデルとされるNCマウスの皮膚炎症状および耳介組織の病理組織変化と類似していた。ヨモギ, ドクダミ, SCERの単一生薬では耳介腫脹の明らかな抑制を示さなかった。SCER-GおよびSCER-Jでは耳介腫脹の抑制がみられた。3生薬配合のSCER-GJは経口投与ならびに耳介塗布によって、耳介腫脹と皮膚症状の改善を認めた。SCER-GJ 250 mg/kg 経口投与の耳介病理組織学的検査では、表皮・真皮の肥厚、表皮の痂皮形成と肥満細胞の増加を抑制することが明らかとなった。以上のようにSCER-GJの経口投与ならびに塗布によってOxa誘発アレルギー性皮膚炎を抑制したことから、SCER-GJは種々の皮膚炎の治療に有効であることが示唆された。

キーワード：生薬, ドクダミ, ヨモギ, クマザサ, アレルギー性皮膚炎

近年、対症療法では治癒困難な接触性皮膚炎やアトピー性皮膚炎などの難治性皮膚疾患に対する漢方薬による治療が広まり、治療症例や作用機序についての研究報告も増加している<sup>1,2)</sup>。それに伴って、各種皮膚疾患に有効な新しい生薬成分、生薬配合剤や軟膏剤の開発も行われている<sup>3-5)</sup>。

一方、種々の皮膚疾患に対する民間療法として、クマザサ、ドクダミ、ヨモギ、モモの葉、スモモの葉、枇杷葉などの青汁や煎液が溶剤として用いられてきた<sup>6,7)</sup>。クマザサは抗炎症作用<sup>8)</sup>、免疫系に対する作用<sup>9)</sup>、膜安定化作用<sup>10)</sup>、抗酸化作用<sup>11)</sup>を有することが認められており、その抽出残渣も浴用、和紙や化学繊維あるいはペット用トイレの殺菌、消臭用に利用されている。しかし、クマザサアルカリ加水分解エキス抽出残渣やドクダミ、ヨモギの皮膚炎に対する作用は検討されていない。また民間療法では単一生薬が用いられるため、数種の生薬を配合して用いた例や配合エキスの作用を検討した例も見られない。

そこで今回、クマザサの銅置換クロロフィル抽出残渣、ドクダミ、ヨモギの慢性皮膚炎に対する作用を明ら

かにし、3種生薬配合溶剤の開発を目的として、マウスのアレルギー性皮膚炎に対する3種生薬配合エキスの作用を検討した。

## 研究方法

### 1. 実験材料

動物は6週齢BDF<sub>1</sub>系雌性マウス (SLC) を用いた。アレルギー性皮膚反応の感作・誘発にはオキサゾロン (Oxa: シグマ) を用いた。被検生薬エキスはクマザサ銅置換クロロフィル抽出残渣 (Sasa Cu-chlorophyll extracted remnants: SCER, (株)サンクロン) 150 g, ドクダミ (Juyaku: J) 20 g, ヨモギ (Gaiyo: G) 30 g, SCER + ドクダミ (SCER-J), SCER + ヨモギ (SCER-G), ヨモギ + ドクダミ (GJ), SCER + ヨモギ + ドクダミ (SCER-GJ) の単一あるいは配合生薬を重量の10~20倍の水で煎じて、常法により凍結乾燥エキスを作製した。それぞれのエキスの収量はTable 1に示した。

なお、SCERは浴用などの使用経験から湿重量を、ドクダミとヨモギは漢方薬処方量と民間療法使用量から乾燥重量を秤量した。3生薬の配合比は予備試験の結果か

Table 1 Yield of decocted extract

	Yield(g)
SCER(150 g/1.5 L)	3.0
Juyaku(20 g/400 mL)	4.1
Gaiyo(30 g/600 mL)	6.0
SCER(150 g) + Juyaku(20 g)	7.0
SCER(150 g) + Gaiyo(30 g)	10.0
Juyaku(20 g) + Gaiyo(30 g)	10.0
SCER(150 g) + Juyaku(20 g) + Gaiyo(30 g)	13.0

ら決定した.

2. 実験方法

1) オキサゾロン誘発アレルギー性皮膚炎に対する影響  
各群 6 匹の 6 週齢 BDF<sub>1</sub> 系雌性マウスの腹部をバリカンで剃毛し, 2% Oxa- エタノール溶液 50 μl を塗布して感作した. 感作後 7 日毎に計 4 回, 0.5% Oxa- アセトン・オリーブ油 (4:1) 溶液 20 μl を両耳介の内側に塗布して, 皮膚腫脹反応を誘発した. 各回の誘発 24, 48 時間後に耳介の厚さをダイヤルシクネスゲージ (PEA COCK,G-2. 尾崎製作所) を用いて測定した<sup>12)</sup>. (誘発後の耳介の厚さ-誘発前日の耳介の厚さ)/誘発前日の耳介の厚さの式によって耳介腫脹率を求めた (Fig. 1).

被検エキスの経口投与試験では SCER, ドクダミ, ヨモギ, SCER-J, SCER-G, ヨモギ+ドクダミ, SCER-GJ

Oxa-induced allergic dermatitis

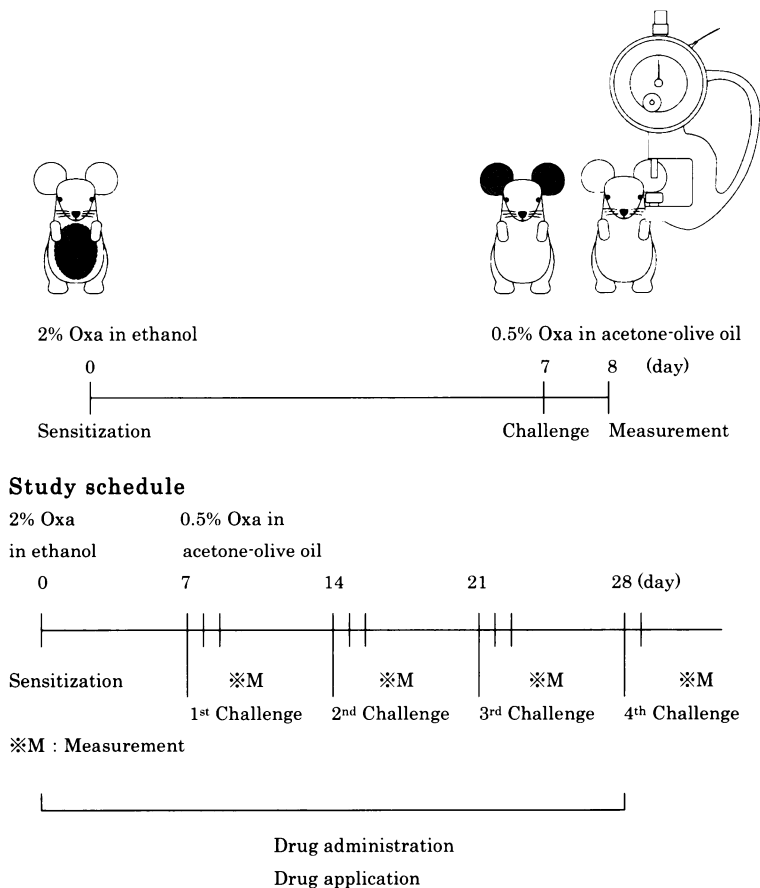


Fig. 1 A method for causing oxazolone (Oxa)-induced allergic dermatitis in mice.

の250, 500 mg/kgを4回目の誘発日まで1日1回経口投与した。被検エキスの塗布試験では、SCER-GJの0.1, 1.0, 2.5, 5.0%水性ワセリン軟膏を4回目の誘発日まで1日1回耳介両面に塗布した。マウスは感作から29日目、4回目の誘発から24時間後にペントバルビタール麻酔下で両耳介を採取し、重量を測定した。

2) 病理組織学的検査

被検エキス経口投与試験終了後に耳介組織を摘出し、10%ホルマリン液に固定し、病理標本とした。パラフィン包埋後に薄切した耳介切片はhematoxylin-eosin (HE)染色、ギムザ染色、トルイジンブルー染色、ルナ染色を施し、病理組織像の変化を観察した。

3) 統計学的検査

耳介腫脹率と耳介重量の結果は平均値±標準偏差で表示した。各群の有意差はF検定とStudent's t-testで検定し、危険率5%未満を有意差有りとして判定した。

結 果

1. Oxa 誘発アレルギー性皮膚炎に対する影響

被検エキス経口投与試験の結果はTable 2とFig. 2に示した。単一生薬エキスにおいて、ドクダミは250 mg/

kgで誘発3, 4回目の耳介腫脹を抑制したが、500 mg/kgでは誘発3回目の耳介腫脹を増悪した。ヨモギは250 mg/kgで誘発2回目の耳介腫脹を増悪し、500 mg/kgでも抑制は認めなかった。SCERは250 mg/kgで誘発1~3回目、500 mg/kgで誘発1~2回目の耳介腫脹を抑制した。2生薬配合エキスにおいて、ドクダミ+ヨモギは250 mg/kgで誘発1, 2回目の耳介腫脹を抑制したが、500 mg/kgでは誘発1~3回目48時間後の耳介腫脹を増悪した。SCER+ヨモギは250 mg/kgで誘発1~4回目の耳介腫脹を抑制し、500 mg/kgでも誘発2, 3回目の耳介腫脹を抑制した。SCER+ドクダミは500 mg/kgで誘発2~4回目の耳介腫脹の抑制を示した。3生薬配合エキスのSCER-GJは250 mg/kgで誘発1~4回目の耳介腫脹を抑制した。500 mg/kgでは誘発1, 2回目の耳介腫脹を抑制したが、用量依存性はみられなかった。

Oxa 誘発4回目、24時間後の耳介重量はヨモギの250 mg/kgでOxa 対照以上に増加した。SCER-GJは耳介重量の増加を抑制し、その抑制作用は250 mg/kgで強く認められた (Fig. 3)。

3生薬配合エキス (SCER-GJ) を耳介に塗布した試験

Table 2 Effects of oral administration of Gaiyo, Juyaku and SCER on ear swelling of oxazolone (Oxa)-induced allergic dermatitis in BDF<sub>1</sub> mice.

Challenge Treatment (mg/kg, p.o.)	Ear swelling (%)						
	① 24h	① 48h	② 24h	② 48h	③ 24h	③ 48h	④ 24h
Oxa	120.8 ± 23.1	73.2 ± 18.4	156.2 ± 27.0	111.0 ± 27.7	171.4 ± 24.5	188.3 ± 38.1	208.8 ± 48.3
J 250	101.0 ± 22.7	72.9 ± 23.9	134.7 ± 23.4	116.9 ± 26.5	148.9 ± 33.3	149.2 ± 29.3*	154.0 ± 23.3**
J 500	103.4 ± 22.8	79.5 ± 14.0	133.9 ± 23.5*	134.2 ± 28.9	208.9 ± 57.3	255.7 ± 78.2*	229.3 ± 41.5
SCER 250	79.4 ± 24.1***	66.1 ± 29.9	127.5 ± 28.9*	87.7 ± 14.6*	170.7 ± 31.1	146.7 ± 23.4*	181.4 ± 43.9
SCER 500	89.5 ± 19.6**	58.6 ± 13.8	115.9 ± 21.4***	105.5 ± 13.9	170.4 ± 26.8	170.5 ± 42.7	206.6 ± 52.8
G 250	102.4 ± 34.3	93.3 ± 37.1	162.3 ± 36.9	162.0 ± 24.5***	191.1 ± 41.0	224.1 ± 49.8	221.1 ± 52.0
G 500	110.1 ± 35.8	63.3 ± 20.0	141.1 ± 29.3	119.8 ± 35.2	162.9 ± 44.1	157.4 ± 40.3	188.3 ± 42.5
SCER-J 250	114.2 ± 22.6	91.7 ± 30.9	162.8 ± 36.3	142.7 ± 61.9	171.5 ± 41.6	175.6 ± 81.2	184.1 ± 31.1
SCER-J 500	105.8 ± 26.4	60.6 ± 14.2	118.8 ± 13.1***	101.4 ± 20.6	144.6 ± 19.8*	147.4 ± 38.1*	162.7 ± 25.8*
GJ 250	84.1 ± 18.3***	63.3 ± 20.0	118.1 ± 16.6***	110.5 ± 15.4	161.2 ± 22.0	161.2 ± 28.0	185.7 ± 22.2
GJ 500	109.8 ± 11.5	110.3 ± 29.7**	158.2 ± 25.2	149.0 ± 43.9*	197.6 ± 43.4	244.0 ± 70.5*	237.1 ± 62.0
SCER-G 250	78.2 ± 23.2***	78.2 ± 33.8	107.2 ± 22.3***	98.1 ± 22.6	137.1 ± 29.1*	133.8 ± 30.0**	163.3 ± 27.3*
SCER-G 500	108.3 ± 30.2	85.6 ± 15.6	125.8 ± 28.4*	131.7 ± 37.3	151.8 ± 26.1	140.8 ± 35.5*	187.6 ± 31.1

Oxa: oxazolone, G: Gaiyo, J: Juyaku, SCER: Sasa Cu-Chlorophyll extracted remnant. Each datum represents the mean ± S.D. of 6 mice. \*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001: significant difference from Oxa group.

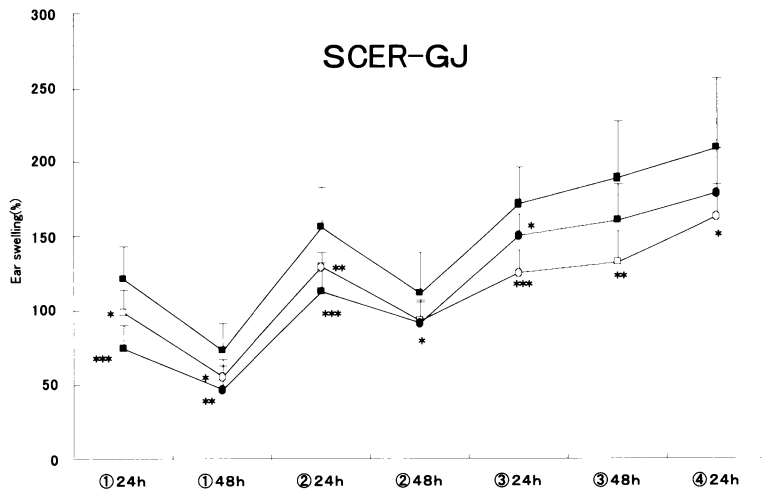


Fig. 2 Effects of oral administration of SCER-GJ on ear swelling of Oxa-induced allergic dermatitis in BDF<sub>1</sub> mice.  
 Oxa: oxazolone, SCER: Sasa Cu-Chlorophyll extracted remnant.  
 ■: Oxa cont., ○: 250 mg/kg, ●: 500 mg/kg.  
 Each point represents the mean ± S.D. of 6 mice.

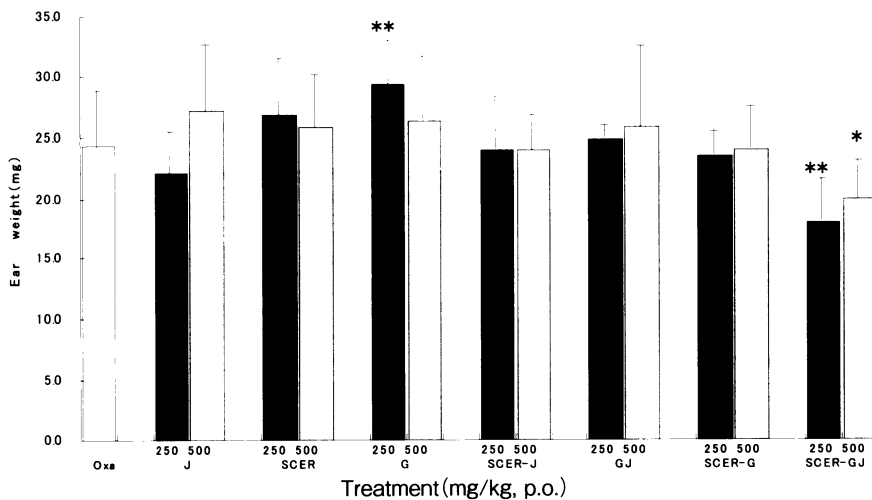


Fig. 3 Effects of oral administration of Gaiyo, Juyaku and SCER on ear weight of Oxa-induced allergic dermatitis in BDF<sub>1</sub> mice. Each column represents the mean ± S.D. of 6 mice.  
 See explanations in Table 1 and Fig. 2.

の結果は Fig. 4 に示した。0.1% および 1.0% SCER-GJ の塗布では耳介腫脹の抑制は認められず、誘発 3 回目、48 時間の耳介腫脹を増強した。2.5% の SCER-GJ 塗布では

誘発 1 ~ 4 回目の全ての耳介腫脹を抑制した。5.0% SCER-GJ 塗布では誘発 1, 2, 4 回目の耳介腫脹を抑制したが、その抑制作用は 2.5% のそれよりも弱かつ

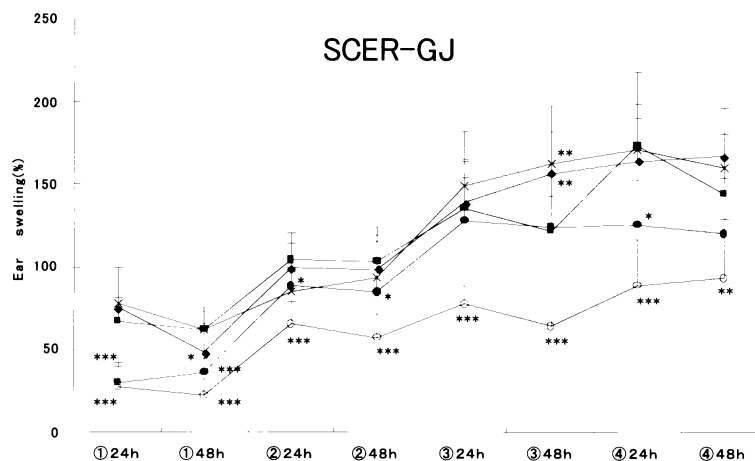


Fig. 4 Effects of SCER-GJ application in auricle of SCER-GJ on ear swelling of Oxa-induced allergic dermatitis in BDF<sub>1</sub> mice.  
 ■: Oxa cont., ◆: 0.1%, ×: 1.0%, ○: 2.5%, ●: 5.0%.  
 See explanation in Fig. 2.

た。

#### 2. SCER-GJ 経口投与試験の耳介病理組織学的検査

Oxa 群の耳介組織では表皮に厚い痂皮が形成され、痂皮下表皮層に潰瘍と角質化がみられ、表皮から真皮層の肥厚と炎症性細胞浸潤を認めた (Photo 1)。SCER-GJ 250 mg/kg の投与で表皮上の痂皮と表皮層の潰瘍ならびに角質化の抑制、皮膚肥厚の抑制を認めた (Photo 1)。ルナ染色では Oxa 群で多数の好酸球浸潤を認めた。この好酸球浸潤は SCER-GJ の 250 mg/kg 投与で抑制された (Photo 2)。肥満細胞をブルーに染色するトルイジンブルー染色では Oxa 群で肥満細胞数の増加がみられ、SCER-GJ の 250 mg/kg 投与で肥満細胞数の減少を認めた (Photo 3)。

#### 考 察

ヨモギとドクダミはモモの葉、スモモの葉や枇杷葉と同様に、民間薬としてあせも、湿疹、おでき、ただれなどの皮膚病に生薬のしぼり汁を塗布したり、煎液を浴用している<sup>1,6,7)</sup>。また、ヨモギ、オオバコ、ドクダミ、ウワウルシの各 5 g の煎液がアトピー性皮膚炎の治療に浴用剤として用いられている<sup>1)</sup>。一方、クマザサは生薬の青汁が健胃、胃のもたれに用いられるほか、殺菌、防腐作用を有することから食品の包装に使用されている<sup>7)</sup>。クマザサのアルカリ加水分解クロロフィル画分は抗炎症作用<sup>8)</sup>、ヒスタミン遊離抑制作用<sup>12)</sup> などが明ら

かにされて、数少ない生薬エキスの医薬品として用いられている。今回用いたクマザサ銅置換クロロフィル抽出残渣 (SCER) も殺菌・消毒、消臭効果を有することから浴剤のほか、和紙や化学繊維あるいはペットのトイレ用砂に混入して使用されているが、ヨモギやドクダミと同様に皮膚炎に対する作用は明らかにされていない。

アレルギー性皮膚炎に対する単一生薬エキスの作用で、ドクダミは 250 mg/kg で耳介腫脹を抑制したが、500 mg/kg では増強を示した。SCER でも 250 mg/kg で耳介腫脹を抑制したが、500 mg/kg では影響はみられなかった。2 生薬配合エキスにおいて、ドクダミとヨモギの配合では 250 mg/kg で耳介腫脹の抑制を示し、500 mg/kg で増強を認めた。SCER-J、SCER-G では耳介腫脹の抑制を認めた。3 生薬配合エキスの SCER-GJ では経口投与ならびに塗布試験において、用量依存性はなかったものの、明らかな耳介腫脹の抑制を認めた。生薬の作用において、用量依存性のないことは知られており<sup>13,11)</sup>、本研究においても耳介腫脹の抑制と増強という相反する作用を示し、SCER-GJ の経口投与ならびに塗布試験では低用量で安定した抑制作用を示したことから、皮膚炎症状の変化に対応して作用する成分が異なることも、用量依存性を示さない原因のひとつと思われる。

一方、NC マウスは conventional な環境下で飼育すると、ダニによって人のアトピー性皮膚炎とよく似た症状

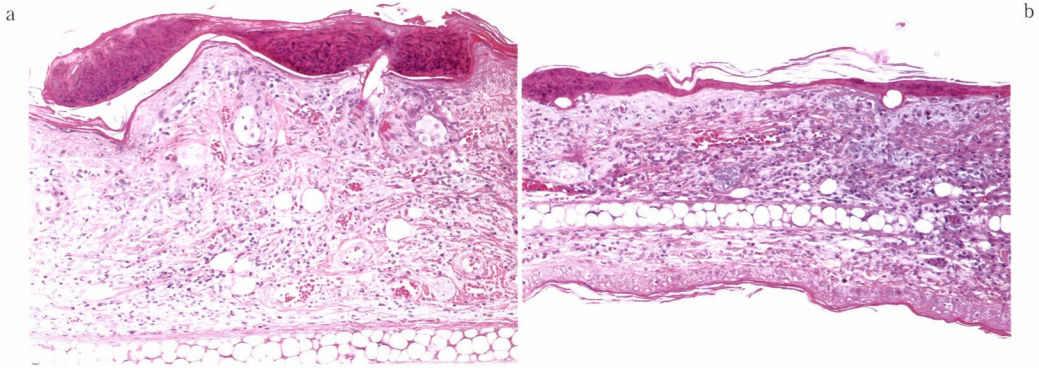


Photo 1 Histopathological findings of the auricle in Oxa-induced allergic dermatitis. H.E. stain ( $\times 20$ ).  
a: Oxa-control. b: SCER-GJ 250 mg/kg

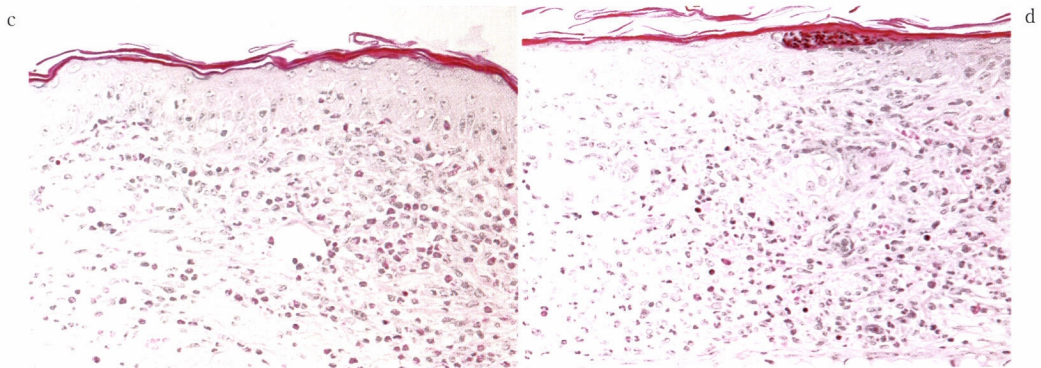


Photo 2 Histopathological findings of the auricle in Oxa-induced allergic dermatitis. Luna stain ( $\times 40$ ).  
c: Oxa-control. d: SCER-GJ 250 mg/kg

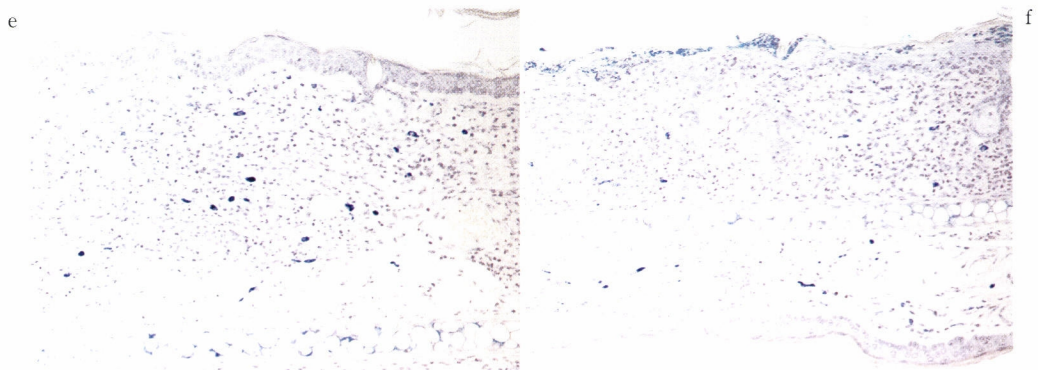


Photo 3 Histopathological findings of the auricle in Oxa-induced allergic dermatitis. Toluidine blue stain ( $\times 20$ ).  
e: Oxa-control. f: SCER-GJ 250 mg/kg

を発症し、specific pathogen free (SPF) 環境下で hapten を反復塗布すると同様の皮膚炎を発症することから、アトピー性皮膚炎に対する薬効試験に用いられている<sup>2,4)</sup>。NC マウスを SPF 環境下で飼育し、マウス耳介に塩化ビクリルを反復塗布すると、1回目より浮腫がみられ、塗布回数に依存して増悪し、4週日以降浮腫の増大と紅斑、擦創、びらん、出血、痂皮形成などのアトピー性皮膚炎様症状の出現を認めている。耳介病理組織学的検査では表皮・真皮の著しい肥厚と真皮の浅層および深層に炎症性細胞浸潤を認め、トルイジンブルー染色により肥満細胞の増加も確認されている。

今回の Oxa 反復塗布によるアレルギー性皮膚炎においても3~4回目の Oxa 塗布で、NC マウスモデルと同様の耳介皮膚炎症状と耳介病理組織病変を認めたことから、Oxa 反復塗布によるアレルギー性皮膚炎は、アトピー性皮膚炎と類似した皮膚炎症状を発現していると考えられる。

SCER-GJ の経口投与と塗布により、耳介腫脹の抑制に加えて、びらんや出血の抑制と痂皮の減少など皮膚炎症状の抑制を認めた。耳介皮膚の病理組織学的検査では表皮・真皮の肥厚は明らかに抑制され、肥満細胞の減少が認められた。SCER-GJ による炎症性細胞浸潤抑制はみられなかったことから、Oxa 反復塗布によるアレルギー性皮膚炎の抑制は肥満細胞の抑制が関与した抗炎症作用であることが示唆された。

アトピー性皮膚炎<sup>1)</sup>では肥満細胞から放出されるヒスタミンをはじめとする起炎物質が皮膚のかゆみや炎症を引き起こし、掻き傷からの細菌感染がみられ、難治性の皮膚炎へ進行する。かゆみや炎症の治療に抗ヒスタミン薬、副腎皮質ステロイド軟膏を患部に塗布する。また皮膚の乾燥には保湿性軟膏を塗布するが、いずれも患部に十分に塗布する必要がある。塗布動作が新たな刺激となることや、乳幼児では塗布時の痛みなどがストレスとなって皮膚炎を悪化させることもある。これに対して、民間療法で用いられてきた浴用剤は皮膚への刺激も少なく、乳幼児でも全身の皮膚に適用できる利便性を有している。今回比較的低用量の塗布でアレルギー性皮膚炎を抑制した SCER-GJ は浴用剤としても有用であると考えられる。

以上のことから、3生薬配合の SCER-GJ のアレルギー性皮膚炎に対する抑制は肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制が関与する抗炎症作用であり、アトピー性皮膚炎によく似た症状に有効性が認められたことから、浴用剤と

してアレルギー性皮膚炎の治療に役立つことが示唆された。

## 文 献

- 1) 久保道徳, 森山健三: アトピー性皮膚炎, あせも, 和漢薬ハンドブック: どんな病気になにが効くか, pp.153-155, 保育社, 大阪, 1995.
- 2) 能勢充彦, 萩原幸夫: アトピー性皮膚炎に有効な漢方方剤の基礎解析—NC マウスハプテン反復塗布慢性皮膚炎に対する十全大補湯の作用解析, 医のあゆみ 202: 935-939, 2002.
- 3) 関 太輔, 井田 充, 森松 進, ほか: アトピー性皮膚炎に対する n-3 系多価不飽和脂肪酸内服療法の効果—イバオール<sup>®</sup>を用いたアトピー性皮膚炎の食事療法の検討—, 皮紀 90: 559-566, 1995.
- 4) 平澤康史, 大津尚子, 松井ゆかり, ほか: NC/Nga マウスを用いたオウゴン, オウバク, オウレンなどからなる生薬配合製剤およびシコン, トウキ, ゴマ油などからなる生薬配合軟膏製剤のアトピー性皮膚炎に対する薬効確認試験, 応用薬理 59: 123-134, 2000.
- 5) 畑 和也, 川口敦司, 野崎良美, ほか: NC/Nga マウス (アトピー性皮膚炎発症マウス) を用いたエゴマ種子抽出物のアトピー性皮膚炎に対する薬効確認試験, 医と薬学 47: 633-639, 2002.
- 6) 原色牧野和漢薬草大圖鑑 (和田浩志, ほか編修), 新訂, pp.1, 170, 181-182, 538, 595, 北隆館, 東京, 2002.
- 7) 御影雅幸, 吉光見稚代: ヨモギ, カワラヨモギ, ササの仲間, 薬草: 種類・薬効・使い方, pp.52-53, 125, 保育社, 大阪, 1996.
- 8) 大泉高明, 白崎恭子, 田端貴子, ほか: クマザサ抽出液に関する薬理学的研究—抗炎症作用, 食食能に及ぼす影響について—, 昭和医会誌 48: 595-600, 1988.
- 9) 大泉高明, 児玉恭子, 辻まゆみ, 他: クマザサ抽出液と生薬エキスの膜作用について, 昭和医会誌 49: 315-321, 1989.
- 10) 中山貞男, 奥村昌恵, 鈴木邦彦, ほか: 果糖誘導性高脂血症と過酸化脂質形成に対するクマザサ抽出液の影響, 薬理と臨 10: 285-293, 2000.
- 11) 中村秀雄: オキサゾロン誘発耳介浮腫, 抗炎症薬および抗アレルギー薬の動物モデルによる評価方法 (大和雄雄編), pp.85-92, 廣川書店, 東京, 1993. (廣川生物薬科学実験講座第12巻, 炎症とアレルギー I-1)
- 12) Okazaki M, Tsuji M, Yamazaki Y, et al: Inhibitory effects of Sasa senanensis Rehder Extract (SE) on calcium-ionophore A23187-induced histamine release from rat peritoneal exudate cells, *Jpn J Pharmacol* 79: 489-492, 1999.
- 13) 江田昭英: IV型アレルギー反応と和漢薬, 日東洋医学誌 50: 564-579, 2000.
- 14) 齋川真聰, 小口勝司, 中山貞男: マウスの遅延型

EFFECTS OF GAIYO, JUYAKU AND SASA Cu-CHLOROPHYLL  
EXTRACTED REMNANTS ON ALLERGIC  
DERMATITIS IN MICE

Taku YAMAURA and Katsuji OGUCHI

Department of Pharmacology, Showa University, School of Medicine

Sadao NAKAYAMA

Department of Occupational Therapy, School of Nursing and  
Rehabilitation Sciences, Showa University

**Abstract** — The effects of Gaiyo (G), Juyaku (J) and Sasa Cu-Chlorophyll extracted remnants (SCER) on oxazolone (Oxa)-induced allergic dermatitis in BDF<sub>1</sub> mice were investigated. Ear swelling of Oxa-induced allergic dermatitis was produced following form application of Oxa in BDF<sub>1</sub> mice. SCER-G and SCER-J reduced Oxa-induced ear swelling. Oral administration and application of SCER-GJ inhibited ear swelling, hemorrhaging and incrustation in Oxa-induced allergic dermatitis. According to histopathological examination of the auricle in each group, the incrustation, hypertrophy of epidermis and dermis and increases of mast cells in Oxa-induced dermatitis were inhibited by SCER-GJ administration. These results suggest that SCER-GJ improves allergic dermatitis and atopic dermatitis.

**Key words:** crude drugs, Juyaku, Gaiyo, Sasa, allergic dermatitis

[受付 : 2月20日, 受理 : 3月13日, 2007]