

植物多糖体C-UPIIIによる犬単球貪食能の活性化

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者名	吉田, 哲 中西, 信夫 山田, 浩司
発行元	日本獣医師会
巻/号	59巻2号
掲載ページ	p. 117-121
発行年月	2006年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



植物多糖体 C-UP III による犬単球貪食能の活性化

吉田 哲^{1)†}中西信夫²⁾山田浩司²⁾

1) 山之内製薬(株)ヘルスケア研究所 (〒174-8612 板橋区蓮根3-17-1)

2) (株)京都動物検査センター (〒612-8073 京都市伏見区下板橋町585)

(2005年4月25日受付・2005年9月1日受理)

要 約

植物多糖体C-UP IIIを投与した犬の単球貪食能(貪食数および貪食率)を検討した。C-UP III 0.01~0.05g/kg/日、7日間連続投与した犬の単球貪食能は、投与開始7日後に増加した。21日後では0.02gおよび0.05g/kg投与群は高値を維持したが、0.01g/kg投与群の貪食数は増加したが貪食率に有意差は認められなかった。C-UP III 8.3mg/kg/回、1日2回、3日間連続投与した犬の貪食数は投与開始3および7日後に有意に高値となり、貪食率は投与開始2、3および7日後に有意に高率を示した。貪食能は投与開始3日後から上昇したが、投与0~2日後の投与前、投与15、30および45分後の体温に変動は認められなかった。したがって、C-UP IIIによる単球の貪食能促進は、体温上昇に因らない作用であることが確認された。——キーワード：漢方生薬、犬、マクロファージ、単球、貪食能。

日獣会誌 59, 117~121 (2006)

植物多糖体C-UP III^{a)}はベニバナ花(*Carthamus tinctorius* L.)、カボチャ種子(*Cucurbita moschata* Duch.)、スイカズラ花(*Lonicera japonica* Thunb.)およびオオバコ種子(*Plantago asiatica* L.)の4種の植物の乾燥粉末の混合物で、マクロファージ(Mφ)活性化作用を有する。

C-UP IIIの活性はインターフェロン(IFN)誘発能、Mφの貪食能、飼料効率の向上などを指標にしている。選択された4種の植物のすべては食品レベルの植物であり、医薬品としてのみ使用される植物は含んでいない。C-UP IIIは養殖魚の生体防御能の向上に有効であることが知られている[1]。さらに、すでにC-UP IIIは人の健康食品^{b)}にも応用され、その臨床的使用の効果に関して報告されている[3, 13]。

生体防御機構におけるマクロファージ(Mφ)の存在は重要であり、Mφの主な役割は貪食による異物排除、抗原提示およびサイトカイン産生などがあげられる。しかし、漢方処方において犬Mφの貪食能の上昇を確認している研究は少なく、葛根湯の経口投与による単球の貪食能を確認した研究以外にあまり知られていない[7]。葛根湯を犬に投与した場合、血液中Mφの貪食能が増大するとともに、体温の上昇も確認された。体温上昇のみでもMφの貪食能の促進が惹起されることが知られており[10]、この促進作用が漢方薬成分の直接的作用

によるものか、体温上昇に付随した作用なのかは不明である。

そこで、犬における単球活性化の有無をC-UP IIIの段階的用量設定により確認するとともに、単球貪食能と体温上昇との関連性についても検討したので報告する。

材 料 お よ び 方 法

投与量および投与方法：犬へのC-UP III投与量は、未発表データによると体重600kgの成牛に原末10g/日連続給与で単球の貪食能を上昇させたことを参考にし、投与量の確認試験(投与量試験)においては1日に体重1kgあたり原末0.01g、0.02gおよび0.05gを設定した。各投与量のC-UP IIIはウエットタイプの市販缶入りペットフード^{c)}200gに混合し、毎朝1回ずつ7日間経口投与した。なお、対照群は無処置対照とした。未発表データによると体温の上昇を確認する試験(体温試験)では、牛の試験で約600kgの体重で10g/日3日間連続経口投与で同様の単球貪食能が確認されたため(換算すると0.016g/kg/日に相当)、原末0.0083g/kg/回を朝夕2回、3日間連続経口投与した。対照群には生理食塩水

a) EH 0202, 山之内製薬(株), 東京。

b) インターパンチ, (株)サンウエル, 東京。

c) 犬用メンテナンス缶詰ビーフ, 日本ヒルズ・コルゲート(株), 東京。

† 連絡責任者：吉田 哲 (オリジナル・イメージ(株))

〒231-0004 横浜市中区元浜町3-21-2 ☎045-222-8424 FAX 045-222-8288

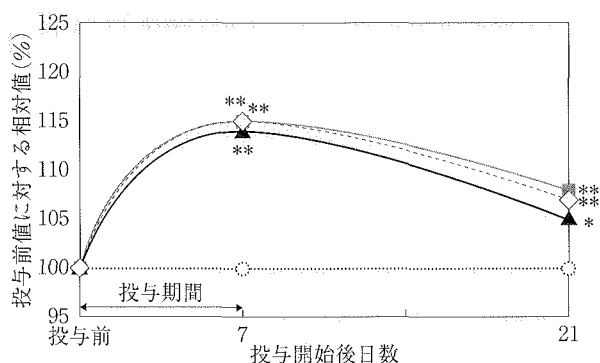


図1 投与量試験における単球貪食数
 ○：無添加対照，▲：C-UP III 0.01g/kg/日，
 ◇：C-UP III 0.02g/kg/日，
 ■：C-UP III 0.05g/kg/日。
 *：P<0.05，**：P<0.01

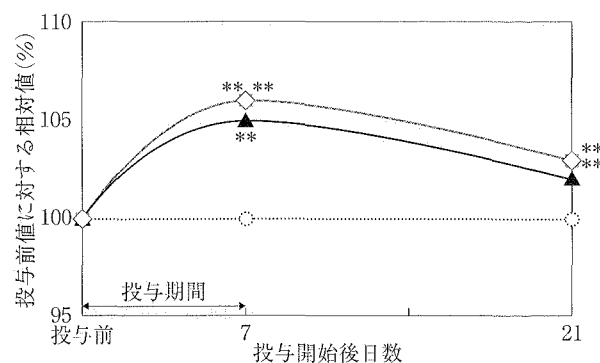


図2 投与量試験における単球貪食率
 ○：無添加対照，▲：C-UP III 0.01g/kg/日，
 ◇：C-UP III 0.02g/kg/日，
 ■：C-UP III 0.05g/kg/日。
 **：P<0.01

0.5ml/kg/回を1日2回(朝, 晩)投与した。

使用動物：投与量試験では12～13カ月齢，体重7.7～9.4kgの健康な雌ビーグル犬^{d)}12頭(1群3頭)を，体温試験では1～6歳，体重6.9～10.3kgの健康な雌ビーグル犬10頭(1群5頭)を供試した。

飼育管理：動物はステンレス製ケージで飼育した。投与量試験では動物には毎朝ペットフード^{e)}200gを，毎夕犬実験用固形飼料^{f)}200gを給与し完食させた。体温試験では朝夕にそれぞれ固形飼料^{f)}200gを給与し完食させた。飲水はウォータースタックを用いて自家水道水を自由摂取させた。一般管理は慣例に従い，試験期間中は治療のための抗菌剤およびワクチン投与は行わなかった。

単球の分離方法：投与量試験では投与前(0日)，投与開始7日および21日後に採血した。体温試験では投与前，投与開始1日後(2回目投与1時間後)，2日後(3回目投与1時間後)，3日後および7日後に採血した。採血はヘパリン処理真空採血管を用いて頸静脈より約7ml採血した。単核球分離用チューブ^{g)}に血液7mlを静かに重層して速やかに遠心分離(3200rpm, 20分)した後，静かに白血球層を回収し，ダルベッコのリン酸緩衝食塩液(PBS)で2回洗浄(1200rpm, 5分間)した。沈渣をRPMI 1640培養液^{h)}(培養液)に浮遊してガラスシャーレに入れ，37℃，5%CO₂インキュベーターで1時間培養した。浮遊液を吸引除去後，ガラスシャーレに吸着した細胞(単球)を培養液で静かに回収した。単球浮遊液は単球が1.0×10³個/mlになるように培養液で調整した。また，ラテックスビーズ^{h)}(LB)浮遊液は1.0×10⁵LB数/mlになるように培養液で調整したものをを使用した。

貪食活性測定：単球浮遊液とLB浮遊液を1mlずつ混合し，37℃，1時間放置した。次いで，PBSで2回洗浄(1200rpm, 5分間)し，フリーのLBを除去後，70%エ

タノール0.2mlで固定した。固定後の液をスライドグラス上に塗抹し，ギムザ染色した。顕微鏡下(400倍)で100個の単球について貪食LB数を測定した。測定は3回繰り返し，平均値を個別データとした。各群の個別データを平均して，各群のデータとした。単球貪食数は単球1細胞あたりの平均LB貪食数(貪食LB数/細胞)，単球貪食率はLBを1個以上貪食した単球の割合(貪食率；%)とした。

体重測定および観察項目：体重は試験開始前および試験終了後の2回測定した。臨床症状は，試験期間中に呼吸器(くしゃみ，咳，鼻汁露出など)，糞便性状(軟便あるいは下痢など)および一般状態(元気，食欲など)を観察し所定の用紙に記入した。

体温測定：体温試験の体温は3日間連続して，それぞれ投与直前，投与15，30および45分後に直腸用予測式電子体温計ⁱ⁾で測定した。測定時点の設定は，葛根湯を犬へ単回投与した場合において投与30分後から有意に体温が上昇し数時間持続したこと[7]から，その条件を参考にした。

統計学的解析：単球貪食数についてはt検定，単球貪食率についてはWilcoxonの順位和検定により投与前との差の検定を行った。体温測定結果は体温の上昇温度をPaired t検定により比較した。

成 績

投与量試験における単球貪食数：投与前，投与開始7日後および21日後の貪食数は，無処置対照群では2.52，

d) 柴薬研ファーム，兵庫。

e) DS-5，オリエンタル酵母工業㈱，東京。

f) VACUTAINER CPT，Becton Dickinson，U.S.A.

g) No. 31800，Gibco Invitrogen Corporation，U.S.A.

h) 0.81μm，Difco Laboratories，U.S.A.

i) ET-402S，テルモ㈱，東京。

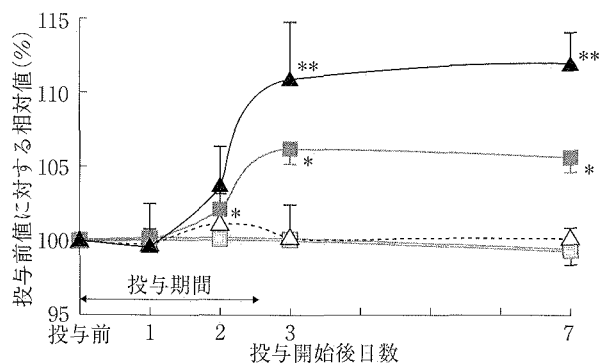


図3 体温試験における単球貪食能
生理食塩水投与群 \triangle ：貪食数， \square ：貪食率
C-UP III投与群 (0.0083g/kg/回，1日2回，3日間連続経口投与) \blacktriangle ：貪食数， \blacksquare ：貪食率。
*：P<0.05，**：P<0.01

2.50 および 2.53，0.01g/kg 投与群では 2.55，2.85 および 2.85，0.02g/kg 投与群では 2.51，2.86 および 2.70，0.05g/kg 投与群では 2.52，2.87 および 2.72 となった。各群における投与前値を 100 とした場合の相対値を図 1 に示した。C-UP III 投与群において投与開始 7 日後および 21 日後に貪食数の有意な増加が認められた。いっぽう，無処理対照群の貪食数は期間を通じてまったく変化がみられなかった。

投与量試験における単球貪食率：投与前，投与開始 7 日後および 21 日後の貪食率は，無処置対照群では 85%，85% および 85%，0.01g/kg 投与群では 85%，90% および 87%，0.02g/kg 投与群では 86%，91% および 88%，0.05g/kg 投与群では 86%，91% および 88% となった。各群における投与前値を 100 とした場合の相対値を図 2 に示した。0.01g/kg 投与群では投与開始 7 日後に有意な増加が認められたが，21 日後には対照群と差がなかった。0.02 および 0.05g/kg 投与群では投与開始 7 日後および 21 日後に貪食数の有意な増加が認められた。いっぽう，無処理対照群の貪食率は期間を通じてまったく変化がみられなかった

投与量試験における体重および一般観察：試験期間中，各動物の体重は 0.0～0.2kg のわずかな変動を認めたが，各群間で大きな差は認められなかった。また，試験期間中，全例に呼吸器症状，糞便性状および臨床症状の異常は認められなかった。

体温試験における単球貪食活性：投与前，投与開始 1，2，3 および 7 日後の貪食数は，生理食塩水投与群では 2.27，2.26，2.30，2.28 および 2.28 であったが，C-UP III 投与群では 2.27，2.26，2.35，2.51 および 2.54 となった。各群の投与前値を 100 とした場合の相対値を図 3 に示した。投与群において投与開始 3 日後および 7 日後に貪食数の有意な増加が認められた。いっぽう，生理食塩水投与群では貪食数に変化は見られなかった。

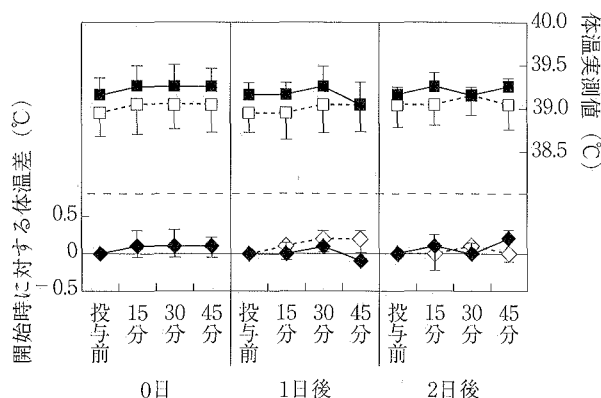


図4 体温試験における体温変動
 \square ：生理食塩水投与群実測値， \blacksquare ：C-UP III 投与群の実測値， \diamond ：生理食塩水投与群の投与開始時との体温差， \blacklozenge ：C-UP III 投与群の投与開始時との体温差。

投与前，投与開始 1，2，3 および 7 日後の貪食率は生理食塩水投与群では 83%，84%，84%，83% および 83% であったが，C-UP III 投与群では 83%，83%，85%，88% および 88% となった。各群の投与前値を 100 とした場合の相対値を図 3 に示した。投与群において 2 日後，3 日後および 7 日後に貪食率の有意な増加が認められた。

体温試験における体温測定：生理食塩水投与群および C-UP III 投与群の平均体温と投与前値との差を図 4 に示した。体温に関しては両群間に統計学的な有意差は認められなかった。

体温試験における体重および一般観察：各群の動物における特筆すべき体重変動，呼吸器症状，糞便性状および臨床症状の異常は認められなかった。

考 察

本試験では 0.02g/kg/日，7 日間連続経口投与により投与開始 21 日後においても単球貪食能が維持されていることが確認された。さらに，8.3mg/kg/回の 1 日 2 回 3 日間連続投与により投与 3 日後から単球貪食能が有意に増加し，投与開始 7 日後まで持続した。したがって，C-UP III 投与による単球貪食能の活性化は，牛 [未発表データ] と犬における感受性の差が多少あるものの，ほぼ同様に起きることが確認された。本試験ではさらに投与 1 日後から 3 日後までの早期の貪食能を経時的に確認し，貪食率は投与 2 日後より，貪食数は投与 3 日後より有意に増加することを明らかにした。

著者らは本試験と同じ試験系を用いて医薬品である葛根湯による単球貪食能亢進と体温の上昇に関して報告した [7]。上記の試験では，葛根湯投与 30 分後から体温の有意な上昇が見られ，投与 2～12 時間後まで単球貪食数および貪食率の有意な増加が確認されている。この

結果は、Roszkowskiら [10] が報告した兎を温水に浸漬後に腹腔内M ϕ の貪食活性が向上した試験結果と類似した結果である。したがって、体温上昇がM ϕ の活性化に関与していることが推察され、葛根湯服用により体温中枢を介して体温上昇が促進され、その結果M ϕ が活性化したものと推測された [7]。そこで、C-UP IIIの投与による単球能の活性化が体温上昇によるものかどうかを調べるため、体温測定をしたところ、C-UP III投与による体温の変動はなく、C-UP IIIの作用は体温上昇による単球の活性化ではないことが確認された。血液中の単球が組織へ移行する回転時間はマウスで1.3日以下といわれており [2]、比較的早期に組織中へ移行する。本試験では、3日間連続投与した犬の単球貪食能は、投与開始7日後まで持続していたことから、貪食能の機序は別であると考えられた。

IFNの発見者である小島 [5] は、日本で通常使用されている約200の漢方生薬のIFN誘発能のスクリーニングを行った [4]。植物多糖体C-UP IIIはこの研究を応用して開発された。また、多糖体はM ϕ の貪食能を高めることが知られている [11]。C-UP IIIの人用の健康食品^{b)}は市販され、それを用いた臨床試験も実施されている [3, 13]。それらによると、C型慢性肝炎患者では自覚症状の改善とC型肝炎ウイルス量 (HCV-RNA量)の減少が [3]、更年期の不定愁訴では自覚症状の改善、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子の増加、卵胞刺激ホルモンの減少、血圧の低減、顔面皮膚表面血流量の低減など [13]、多様な良好な変化が確認された。C-UP IIIの成分である各植物単独ではこれらの薬理的作用は知られておらず、相乗効果によりこれらの現象を起こしていると理解される。

本試験ではC-UP III投与による犬の単球の貪食能の活性化とともに、それと体温との関連性も検討した。その

結果、C-UP IIIにより単球の貪食能の活性化が起こるが、体温上昇に依存しない作用であることが確認された。植物多糖体C-UP IIIが如何なる機構で単球の貪食能活性化作用を誘導するのかについては、今後の検討すべき課題である。

引用文献

- [1] Chansue N, Ponpornpisit A, Endo M, Sakai M, Yoshida S : Fish Pathol, 35, 89-90 (2000)
- [2] Hanaoka M, Tamaoki N : 免疫細胞 免疫応答へ細胞からのアプローチ, 68-99, 文教堂, 東京 (1993)
- [3] Kaji K, Yoshida S, Nagata N, Yamashita T, Mizukoshi E, Honda M, Kojima Y, Kaneko S : J Gastroenterol, 39, 873-878 (2004)
- [4] 小島保彦 : 漢方医学, 5, 9-15 (1981)
- [5] 小島保彦 : インターフェロン その研究の歩みと臨床応用への可能性, 10-15, ㈱ライフ・サイエンス, 東京 (1998)
- [6] 黒川昌彦, 白木公康 : 和漢医薬学雑誌, 11, 71-85 (1994)
- [7] Muraoka K, Yoshida S, Hasegawa K, Nakanishi N, Fukuzawa I, Tomita A, Cyong JC : J Alt Comp Med, 10, 841-849 (2004)
- [8] Nagai H, Nakai N, Nishiyori T, Ogiso H, Ochi T, Tanaka H, Inagaki N : J Trad Med, 15, 208-215 (1998)
- [9] Nagai T, Hanawa T, Yamada H : J Trad Med, 15, 216-224 (1998)
- [10] Roszkowski W, Szmigielski S, Janiak M, Wrembel JK, Roszkowski K, Hryniewicz W : Immunobiol, 157, 122-131 (1980)
- [11] 斎藤卓也, 柴野三智子, 山口淳二 : マクロファージと生体防御—新しい研究の展開—, 85-111, ㈱菜根出版, 東京 (1997)
- [12] 左向敏紀, 本好茂一 : 獣畜新報, 51, 449-453 (1998)
- [13] Ushiroyama T, Yoshida S, Tadaki K, Ikeda A, Ueki M : Am J Chin Med, 32, 755-770 (2004)

Phagocytic Activation of Monocytes by C-UP III Herbal Polysaccharides in Dogs

Satoshi YOSHIDA*†, Nobuo NAKANISHI and Koji YAMADA

* Institute for Consumer Healthcare, Consumer Healthcare Division, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., 3-17-1 Hasune, Itabashi, 174-8612, Japan

SUMMARY

The phagocytic activity of monocytes in the peripheral blood was examined in dogs administered with C-UP III, a mixture of plant polysaccharides. C-UP III was administered at doses of 0.01, 0.02 or 0.05 g/kg/day for seven consecutive days, and phagocytic activity of monocytes was analyzed by the mean number of ingested latex beads (LB) and the percentage of monocytes that ingested LB. As a result, the phagocytic activities of monocytes were significantly elevated on day 7 after the start of administration in all groups. On day 21, the monocyte activity in dogs fed 0.02 and 0.05 g/kg/day was still significantly higher than the initial levels; however, the 0.01 g/kg/day group showed only an increased number of ingested LB, the percentage of LB ingested monocytes was not significantly higher. When C-UP III was administered at 8.3 mg/kg twice a day for three days, the number of ingested LB was significantly elevated on days 3 and 7, while the percentage of monocytes that ingested LB was significantly elevated on days 2, 3 and 7. As a consequence phagocytic activity increased from day 3. There was no change in the body temperature of the dogs on days 0-2 before and 15, 30 and 45 min after C-UP III administration. The authors concluded that the enhanced phagocytic activity of monocytes was a result of C-UP III administration and not of elevated body temperature.

— Key words : chinese medicine, dog, macrophage, monocyte, phagocytic activation.

† Correspondence to : Satoshi YOSHIDA (Original Image Co., Ltd.)

3-21-2 Motohama-cho, Naka-ku, Yokohama, 231-0004, Japan

TEL 045-222-8424 FAX 045-222-8288

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 59, 117 ~ 121 (2006)

動物用医薬品
要指示医薬品

あすか製薬の牛繁殖用ホルモン剤

プロスタグランジン F_{2α}類縁体製剤

ロジプロン-C[®]

【成分・含量】 1mL 中 クロプロステノール 0.250mg 含有

【効能・効果】 牛：性周期の同調，黄体退行遅延に基づく卵巣疾患の治療

【包装】 2mL×10(アンプル)，10mL×1(バイアル)

【休薬期間】 牛：7日間，牛乳：24時間

GnRH 類縁体製剤 (酢酸フェルチレリン)

コンサルタン[®] 注射液

【成分・含量】 1mL 中 酢酸フェルチレリン 50μg 含有

【効能・効果】 牛(雌)：卵胞嚢腫，排卵障害，卵巣静止の治療及び排卵促進

【包装】 10mL×5(バイアル)

【休薬期間】 なし

GnRH 類縁体製剤 (酢酸ブセレリン)

動物用 イトレリン[®] 注射液

【成分・含量】 1mL 中 酢酸ブセレリン 4.2μg 含有

【効能・効果】 牛の卵胞嚢腫，卵胞発育障害(卵巣静止)，排卵障害の治療

【包装】 10mL×1(バイアル)

【休薬期間】 なし

膣挿入プロゲステロン・安息香酸エストラジオール配合剤

プリッド[®] テイゾー

【成分・含量】 1個中 日局プロゲステロン 1.55g

日局安息香酸エストラジオール 10mg 含有

【効能・効果】 牛：発情周期の同調

【包装】 10個

【休薬期間】 なし



あすか製薬株式会社

東京都港区芝浦二丁目5番1号