

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：32403

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16435

研究課題名（和文）痔瘻治療における薬線クシャーラ・スートラの作用機構の解明

研究課題名（英文）Study on therapeutic mechanism of Kshara Sutra medicinal thread in the treatment of anal fistula

研究代表者

横川 貴美（Yokogawa, Takami）

城西大学・薬学部・助教

研究者番号：00825862

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では痔瘻モデルラットを用い痔瘻治療糸、クシャーラ・スートラ（KS）の作用について評価・検討を行った。KS処置によって炎症マーカーであるIL-6やTNF- α の発現量がわずかに増加していること、瘻管の上皮層が欠損または著しく薄くなる様子が認められた。また、痔瘻の原因菌に対して低濃度での抗菌活性を示さなかった。KSによる瘻管上皮層の欠損や形成阻害が、治療期間の短期化に寄与すると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

痔瘻は患者QOLを低下させる重大な病気である。痔瘻に対し、KSはこれまでに患者負担の少ない治療法として多くの臨床報告がなされている一方で、基礎研究によるエビデンスが不足しており、優れた治療法としての可能性を持ちながらも普及には至っていない。本研究によりKSによって瘻管上皮層が欠損し、炎症が誘発されることが明らかとなったため、今後はこれらをターゲットにした更なるメカニズムの探求や、薬の開発へと応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we evaluated the effects of Kshara Sutra (KS), a therapeutic thread for anal fistula, in a rat model of fistula, and found that KS treatment resulted in a slight increase in the expression of inflammatory markers IL-6 and TNF- α , and a loss or significant thinning of the epithelial layer of the fistula tract. In addition, KS showed no antimicrobial activity at low concentrations against anal fistula pathogens. The loss or inhibition of the formation of the epithelial layer of the fistula tract by KS may contribute to a shorter treatment period.

研究分野：生薬、薬用植物、伝統医学

キーワード：痔瘻 クシャーラ・スートラ アーユルヴェーダ

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

痔瘻（じろう）は、細菌感染が原因となり、肛門周囲に膿瘍が形成され、膿を排出する管（瘻管：ろうかん）が形成される疾患である。自然治癒しないため、基本的に外科手術が行われる。Kshara Sutra（KS:クシャラ・スートラ）は、インドの伝統医学であるアーユルヴェーダの痔瘻治療に使用される薬線である。糸に複数の薬剤が塗布される。KSを用いた痔瘻治療は、瘻管から肛門へKSを通して結紮する。すると、徐々に輪の内側の組織が切断され、外側の組織が治癒していく。簡便な術式や肛門機能不全のリスクの低さ等から、日本では1985年よりKSが臨床使用されている。さらに、品質や供給が安定したKSによる痔瘻治療を日本で行うため、国産KSが開発されている。国産KSはウコン末、イチジク乳液、ヒナタイノコズチ灰製剤、トウガラシチンキ、ウコン末で構成される。これらの植物由来薬剤はそれぞれ抗炎症、アルカリによる組織腐食、催炎作用、薬剤と糸の接着剤を期待して導入しているが、実際にKSとして使用した際の薬理作用は不明である。また、インド産KSはロット間での薬効の差が大きく、治療効果が異なるという問題を有している。そのため薬効の強さを事前に評価できれば、臨床での使い分けも可能となるが、作用機序が不明のため薬効評価を行うことができない。作用機構を解明することで、薬効の強さの評価や安定化、薬剤改良に直結すると考えられる。

2. 研究の目的

痔瘻は患者QOLを低下させる重大な病気である。痔瘻に対し、KSはこれまでに患者負担の少ない治療法として多くの臨床報告がなされている。一方で基礎研究によるエビデンスが不足しており、優れた治療法としての可能性を持ちながらも普及には至っていない。また、KSの品質や原料として使用されている植物由来薬剤についても、作用機序が不明なため適切な評価に至っていない。そのため本研究は、臨床実績を有するKSについて痔瘻治療での作用メカニズムの解明を目的とし、痔瘻モデルラットにおけるKSの有効性を評価した。本研究では品質の安定している国産KSを使用した。

3. 研究の方法

(1)-1. 痔瘻モデルラットの作成

7週齢雄性Wistarラットを三協ラボより入手した。ラットに三種混合麻酔（0.15 mg/kg メデトミジン、2 mg/kg ミダゾラム、2.5 mg/kg ブトルファノール）を腹腔内投与し、直腸内部より肛門外側の皮膚に向けて針金を貫通させ、針金を留置した状態で4週間飼育し、痔瘻モデルラットとした。本研究における動物実験は、城西大学動物管理委員会の承認を得て実施した（第JU22085号）。

(1)-2. 痔瘻モデルラットに対するKSの治療効果の検討

痔瘻モデルラットの瘻管にKSまたは薬剤を塗布していない対照糸（CNT）にて結紮した。その後、6週間そのまま飼育した群と、約1週間ごとに毎回糸を交換した群にわけた。治療期間中は毎日観察を行い、開放創となり糸脱落までの期間を記録した。

(1)-3. 発現解析及びIL-6の定量

痔瘻モデルラットをKSまたはCNTにて処置し、所定の時間後、ペントバルビタールを過剰投与し、瘻管周辺組織及び血液を採取した。瘻管周辺組織からTotal RNA抽出を行い、cDNAに逆転写後、IL-6、TNF- α のRT-PCRを行った。血液は血清とし、ELISA kit（CUSABIO®）を用いてIL-6の定量を行った。

(2) 抗菌試験

Escherichia coli(ATCC 25922)、*Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)は理化学研究所から分譲された菌株を使用した。KS及び構成薬剤をメタノールで抽出し溶媒を留去し、100 mg/mLとなるようにDMSOに溶解した。抽出エキスを1-128 μ g/mLとなるようMueller-Hinton Brothで希釈し、微量液体希釈法にて抗菌活性を評価した。

4. 研究成果

(1) -1. 痔瘻モデルラットに対するKSの治療効果

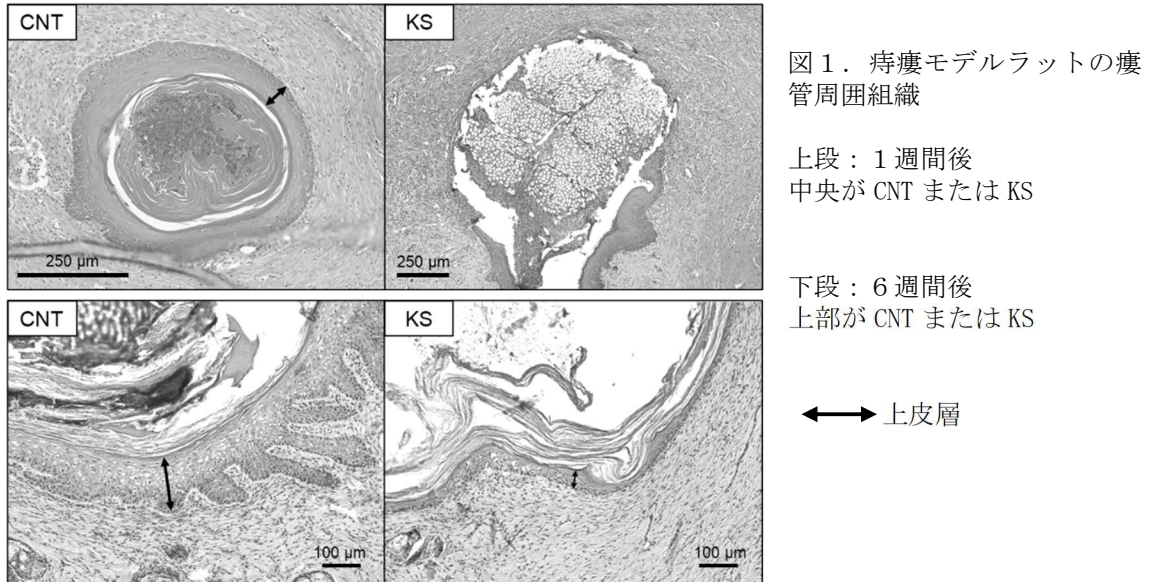
6週間糸の交換を行わなかった、すべてのラット（KS・CNT、各3匹）は開放創とならなかった。毎週糸交換を行ったKS及びCNT処置のすべてのラットで瘻管が開放創となった。そのため、糸の交換により組織が常に圧迫された状態が、KSでの痔瘻治療には重要であると考えられる。

開放創となるまでの日数はCNTで34.9 \pm 8.3日、KSは28.3 \pm 14.2日であり、糸の交換回数はCNTで5.4 \pm 1.4回、KSは4.3 \pm 2.1回、組織切断速度はCNTで0.41 \pm 0.11 mm/day、KSで0.57 \pm 0.21 mm/dayだった（Table 1）。そのため、KSによる痔瘻モデルラットの処置期間がCNTに比して短くなる傾向が認められた。また、6週間糸交換を行わなかった組織をHE染

色にて観察した (図 1)。CNT 処置した瘻管は1週間後、6週間後共に上皮層が厚い状態で維持されたが、KS 処置では1週間後では上皮層が一部欠損し、6週間後に形成されてた上皮層は薄かった。

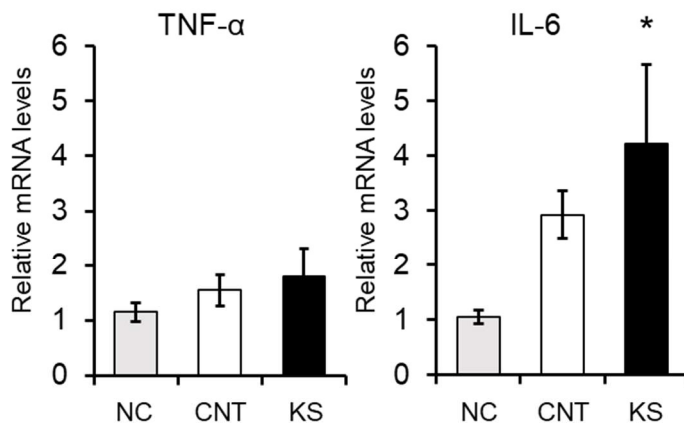
Table 1 痔瘻モデルラット治療における KS と CNT の効果比較

	処置数	A. 最初の糸の長さ (cm)	B. 糸の交換回数	開放創となるまでの日数	A/B (cm/回)	組織切断速度 (mm/day)
CNT	8	1.35±0.17	5.4±1.4	34.9±8.3	0.27±0.09	0.41±0.11
KS	9	1.39±0.37	4.3±2.1	28.3±14.2	0.39±0.19	0.57±0.21



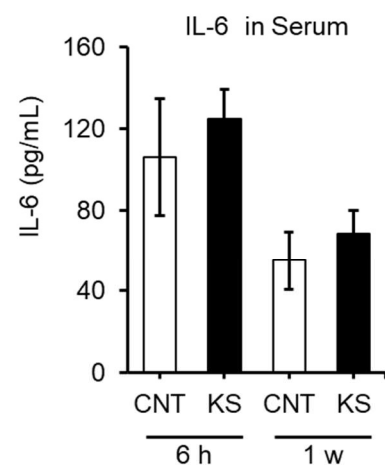
(1)-2. 発現解析及び IL-6 の定量

瘻管周辺組織の TNF- α 、IL-6 の mRNA 発現解析を実施したところ、KS 処置群の方が TNF- α 及び IL-6 の発現量がわずかに高かった (図 2)。また、血清中の IL-6 も KS 処置の方が、わずかに高かった (図 3)。そのため、KS は炎症を惹起していると考えられる。



Mean \pm SE, $n = 4-5$ * $P < 0.05$, Dunnett's test vs NC
NC = negative control, no treatment

図 2. 痔瘻組織の TNF- α 及び IL-6 の発現解析



Mean \pm SE, $n = 3-6$

図 3. ELISA 法による血清 IL-6 の定量

(2) 抗菌試験

痔瘻の原因菌とされる *E. coli* または膿瘍の原因となりうる *S. aureus* に対し、KS 及び構成薬剤の抗菌作用を検討した。どの検体も 1-128 μ g/mL の濃度域では抗菌活性を認めなかった。そのため、KS の薬効には抗菌作用の影響はほとんどないと考えられる。

(3) まとめ

KSによる痔瘻治療は開放創となるまでの期間が短縮傾向にあった。短縮した要因として、KSが瘻管上皮の欠損や形成を遅らせていることが観察された。更に、KSが炎症マーカーを上昇させる傾向にあったため、炎症を誘発して血流を増加させ、治癒を促進させる可能性が推測される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yoshino Tetsuhiro, Yokogawa Takami, Nakamichi Kohsuke, Manse Yoshiaki, Yoshikawa Hayato, Sasaki Hiroaki, Ando Hirokazu, Nakashima Souichi	4. 巻 10
2. 論文標題 Conference report: Third annual young researcher forum of the Japan Society of Medical and Pharmaceutical Sciences for Traditional Medicine	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Traditional & Kampo Medicine	6. 最初と最後の頁 78～81
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/tkm2.1362	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 横川貴美, 山崎千晶, 坂下優香, 北村雅史
2. 発表標題 痔瘻治療における薬線Kshara Sutra の作用機構の解明 ～炎症系サイトカインの 発現解析及び抗菌活性について
3. 学会等名 日本生薬学会第 68 回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横川貴美
2. 発表標題 痔瘻治療における薬線Kshara Sutraの作用機構の解明
3. 学会等名 第3回和漢医薬学会若手研究者フォーラム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横川貴美, 芝原一樹, 明石敏, 渥美聡孝, 佐藤周平, 大塚功
2. 発表標題 痔瘻治療系Kshara Sutraの結紮がラット背中皮膚及び痔瘻モデル組織に与える影響
3. 学会等名 日本生薬学会第67回年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

城西大学生薬学研究室
<https://jupharmacognosy.com/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------