原著論文　診療と新薬 2026; 63: 747-753

診療と新薬 Web

# 牛車腎気丸の実験的自己免疫性前立腺炎モデルラットにおける排尿困難改善効果とその作用機序

松下哲也[1)]／小森園正彦[1)]／西島さおり[2)]／菅谷公男[2)3)]

## Effect and Mechanisms of Gosha-jinki-gan on Dysuria in a Rat Model of Experimental Autoimmune Prostatitis

Tetsuya MATSUSHITA[1)]／Masahiko KOMORISONO[2)]／Saori NISHIJIMA[2)]／Kimio SUGAYA[2)3)]

1）Kobayashi Pharmaceutical Co., Ltd.
2）Southern Knights' Laboratory Co., Ltd.
3）Department of Urology, Kitagami Central Hospital

● 要約

**目的**：前立腺肥大症（BPH）は，前立腺の腫大や平滑筋収縮により尿道抵抗が亢進し，残尿感や頻尿，排尿困難等を呈する疾患である。近年では慢性炎症がBPHの病態形成に関与することが注目されており，実験的自己免疫性前立腺炎（EAP）がその病態モデルとして用いられている。漢方薬である牛車腎気丸（GJG）は，排尿困難等の適応を持ち，臨床現場において前立腺炎やBPHなどの治療に用いられるが，その薬理学的機序に関する研究は十分に行われていない。そこで本研究では，EAPモデルラットを用い，GJGの排尿困難改善効果およびその作用機序について検討した。

**方法**：8～9週齢のSprague Dawley雄性ラットに前立腺抗原液とComplete Freund's adjuvantを混和し皮下投与することで初回免疫を行った。その後，前立腺抗原液とIncomplete Freund's adjuvantによる追加免疫を行い，前立腺炎を発症させた。排尿機能評価では，初回免疫11日間後に追加免疫を行い，同日より2週間GJGを混餌投与した後，尿道閉鎖圧を測定した。その際，$\alpha_1$受容体遮断薬であるプラゾシンを静脈内投与し，尿道閉鎖圧への影響をあわせて検討した。組織・分子生物学的評価では，初回免疫から2週間おきに計2回の追加免疫を行い，1回目追加免疫日より4週間GJGを混餌投与した。その後，前立腺および尿道を摘出し，前立腺重量測定，ヘマトキシリン・エオジン染色による前立腺の組織学的観察，およびRT-qPCR法による遺伝子発現解析を実施した。

**結果・考察**：EAPモデル（対照群）では正常群と比較して尿道閉鎖圧の上昇傾向が認められたが，GJG群では有意な改善が確認された。プラゾシンの追加投与においては，正常群および対照群で尿道閉鎖圧の有意な低下がみられたのに対し，GJG群ではさらなる圧低下を認めなかった。これは，GJG自体がすでに前立腺や尿道の平滑筋を十分に弛緩させていたためと推察される。また，前立腺重量に群間差は認められなかったものの，組織学的評価において対照群でみられた前立腺上皮の肥厚が，GJG群では抑制されていた。前立腺の遺伝子発現解析では，対照群で増加した炎症性ケモカイン*Cxcl-9*をGJGが有意に抑制し，前立腺における抗炎症作用が確認された。また，尿道組織において，GJG群の*Adra1a*発現にわずかな増加傾向が認められた。これはGJGの$\alpha_1$受容体阻害に伴うフィードバック機構により，*Adra1a*が上方制御された可能性を示唆している。以上より，GJGは前立腺や尿道における平滑筋弛緩作用，および抗炎症作用を発揮することで，亢進した尿道閉鎖圧を正常化し，排尿困難を改善させると考えられた。

**Key words**：牛車腎気丸，前立腺肥大症，排尿困難，実験的自己免疫性前立腺炎

1）小林製薬株式会社　2）株式会社サザンナイトラボラトリー　3）北上中央病院　泌尿器科
【連絡先】小林製薬株式会社　松下哲也（〒562-0029 大阪府箕面市彩都粟生北4-1-66）
TEL：080-7551-9767　E-mail：te.matsushita@kobayashi.co.jp

## はじめに

前立腺肥大症（BPH）は，中高年男性にみられる進行性の泌尿器疾患であり，下部尿路閉塞に伴い，残尿感や頻尿，排尿困難などの下部尿路症状を呈する状態である[1)2)]。その病態における尿道抵抗の増大には，前立腺の腫大による機械的閉塞と，平滑筋収縮による機能的閉塞が知られているが，近年では慢性炎症も原因の一つとして注目されている[3)4)]。実際，BPH 患者の前立腺組織のほとんどすべてに炎症所見を認めることや[5)]，組織学的炎症と国際前立腺症状スコア（I-PSS）との間に相関があることが報告されており[4)]，BPH の炎症病態の評価に実験的自己免疫性前立腺炎（experimental autoimmune prostatitis：EAP）[6)] がモデルとして使用されている[7)8)]。

BPH の治療には，$\alpha_1$ 受容体遮断薬や 5 $\alpha$ 還元酵素阻害薬などが用いられるが[1)]，漢方薬が選択されるケースもあり，特に腎虚の方剤が頻用されている[9)]。なかでも牛車腎気丸（GJG）は，10 種の生薬から構成される漢方薬であり，腎虚で尿不利のある人によいとされ[9)]，排尿困難や頻尿などに適応を持つ。これまでに，BPH や慢性前立腺炎などに対する有効性が報告されているが[10)]，その作用メカニズムに関する検討は十分に行われていない。そこで本研究では，GJG の薬理作用解明研究の一環として，EAP モデルラットを用い，排尿困難改善効果およびその作用機序について検討した。

## Ⅰ．材料および実験方法

### 1. 使用薬物

GJG は，第十九改正日本薬局方[11)] に従い，ジオウ（5），サンシュユ（3），サンヤク（3），タクシャ（3），ブクリョウ（3），ボタンピ（3），ケイヒ（1），ブシ末（1），ゴシツ（3），シャゼンシ（3）を括弧内の重量比で混合した生薬より熱水抽出し，凍結乾燥させたエキス末を使用した。実験には，粉末含量が 2.0%（w/w）となるように粉末飼料（CE-2，日本クレア株式会社）に混合して調製した試験飼料を用いた。

### 2. 実験動物

8 ～ 9 週齢の Sprague Dawley 雄性ラット（39 頭，日本エスエルシー株式会社）を購入し，1 週間の予備飼育期間後，実験に使用した。飼育期間中，飼料および水道水は自由摂取とした。なお，本動物実験は，沖縄動物実験委員会（承認番号 SKL2023001）の承認を得て実施した。

### 3. 前立腺抗原液作製

イソフルラン吸入麻酔下にドナーラットより前立腺組織を摘出し，細断後，組織重量 1 g あたり 3 mL の 0.01 M リン酸緩衝生理食塩水（pH 7.2，プロテアーゼ阻害剤含有）を加えてホモジナイズした。これを遠心分離（100,000 × g，30 分間，4℃）し，回収した上清を前立腺抗原液（PAg）とした。

### 4. 自己免疫性前立腺炎（EAP）モデル作製

ラットを対照群，GJG 投与群（GJG 群），および前立腺抗原による感作を行わない正常群の 3 群に分けた。ドナーラットから得られた 4 mg/mL の PAg に等量の Complete Freund's adjuvant（CFA）を加えてエマルジョンを作製し，これをイソフルラン吸入麻酔下にて，対照群および GJG 群の尾底部に計 2 mL 皮下投与した（初回免疫）。正常群には，生理食塩水と CFA で作製したエマルジョンを同様に投与した。一定期間後（実験系により異なる），4 mg/mL の PAg に等量の Incomplete Freund's adjuvant（ICFA）を混合したエマルジョンを作製し，対照群および GJG 群に計 2 mL を皮下投与することで追加免疫を行い，前立腺炎を誘発した。正常群には，生理食塩水と ICFA で作製したエマルジョンを投与した。

### 5. 尿道閉鎖圧測定

初回免疫から 11 日間後に追加免疫を行い，同日より GJG 群には試験飼料（GJG 2.0%含有）の給餌を開始した。追加免疫から 2 週間後（初回免疫から 25 日後），ウレタン麻酔（1.2 g/kg；1/3 量を腹腔内，2/3 量を皮下投与）下にて，膀胱を露出させ小孔を開け，先端を閉鎖し先端から 4 ～ 5 mm の位置に側孔を設けた尿道内圧測定用カテーテル（PE-50，Clay-Adams）を尿道内に挿入した。側孔部を内尿道口から 5 ～ 8 mm の位置（前立腺部尿道付近）に留置し，カテーテル内に 3 mL/hour の速度で生理食塩水を注入しながら，その灌流圧をトランスデューサーを介して記録し，尿道閉鎖圧として評価した。さらに，前立腺および尿道において平滑筋弛緩作用のある $\alpha_1$ 受容体遮断薬のプラゾシン 1 mg を大腿静脈内に投与し，尿道閉鎖圧の変化を評価した。

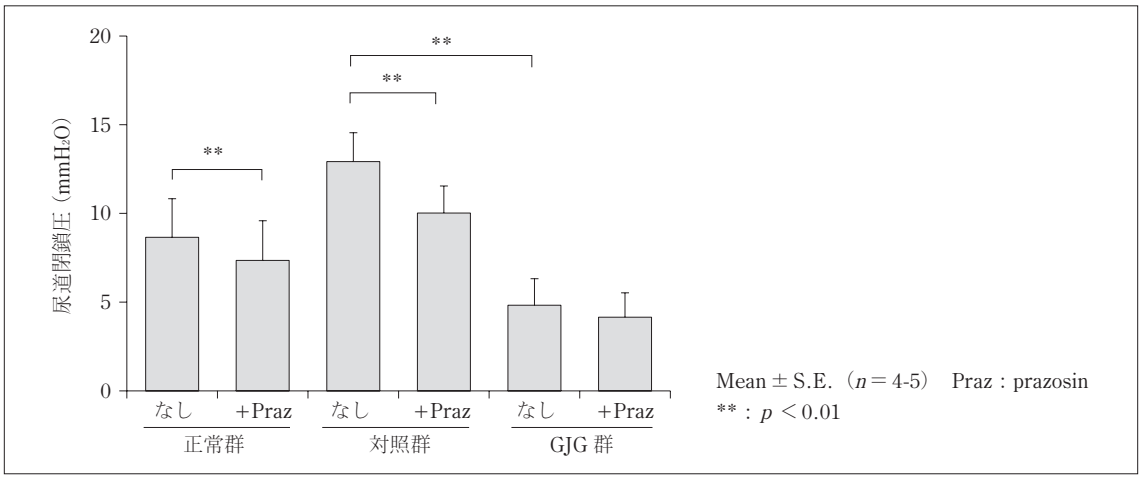



**図 1**　尿道閉鎖圧

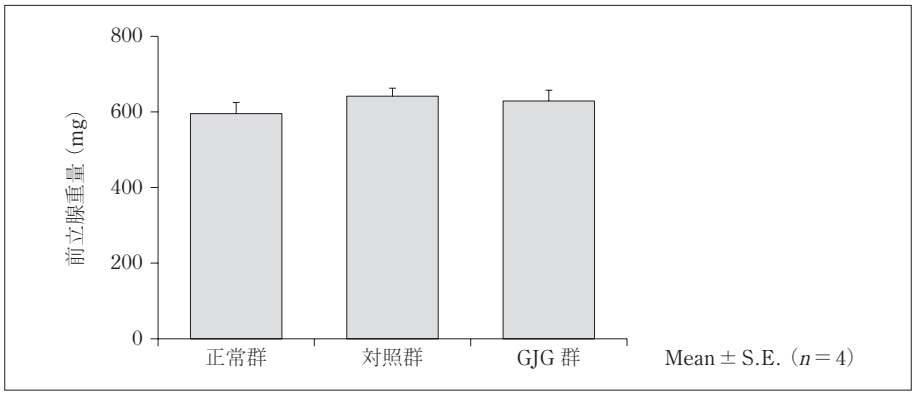



**図 2**　前立腺重量

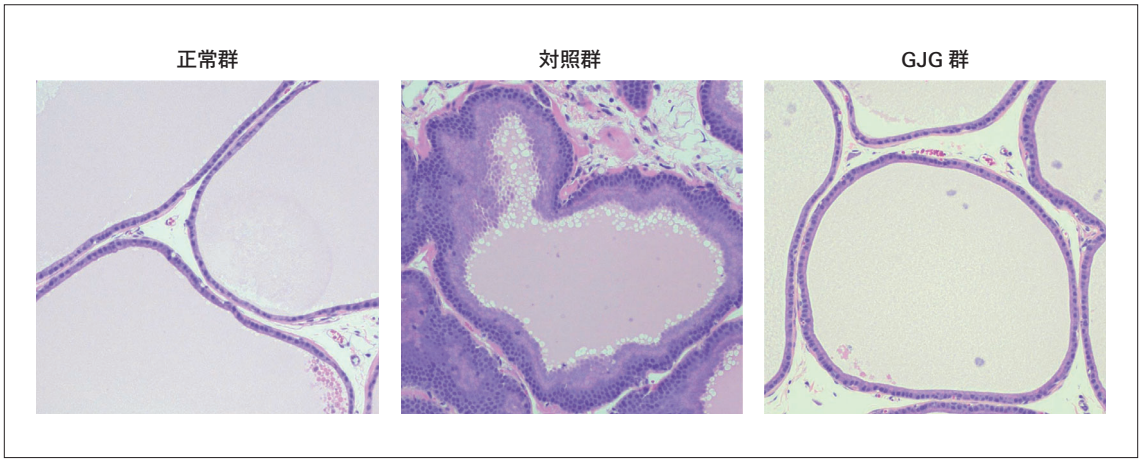



**図 3**　前立腺組織切片染色

### 6. 前立腺重量測定，組織観察および遺伝子発現解析

初回免疫から 2 週間おきに計 2 回の追加免疫を行い，より慢性的な炎症状態を誘導した。1 回目の追加免疫日より，GJG 群には試験飼料の給餌を開始した。2 回目の追加免疫から 2 週間後（初回免疫から 6 週間後），イソフルラン麻酔下に前立腺および尿道を摘出し，前立腺重量を測定した。摘出した前立腺前葉の約半分はパラフォルムアルデヒドで固定し，ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を行っ

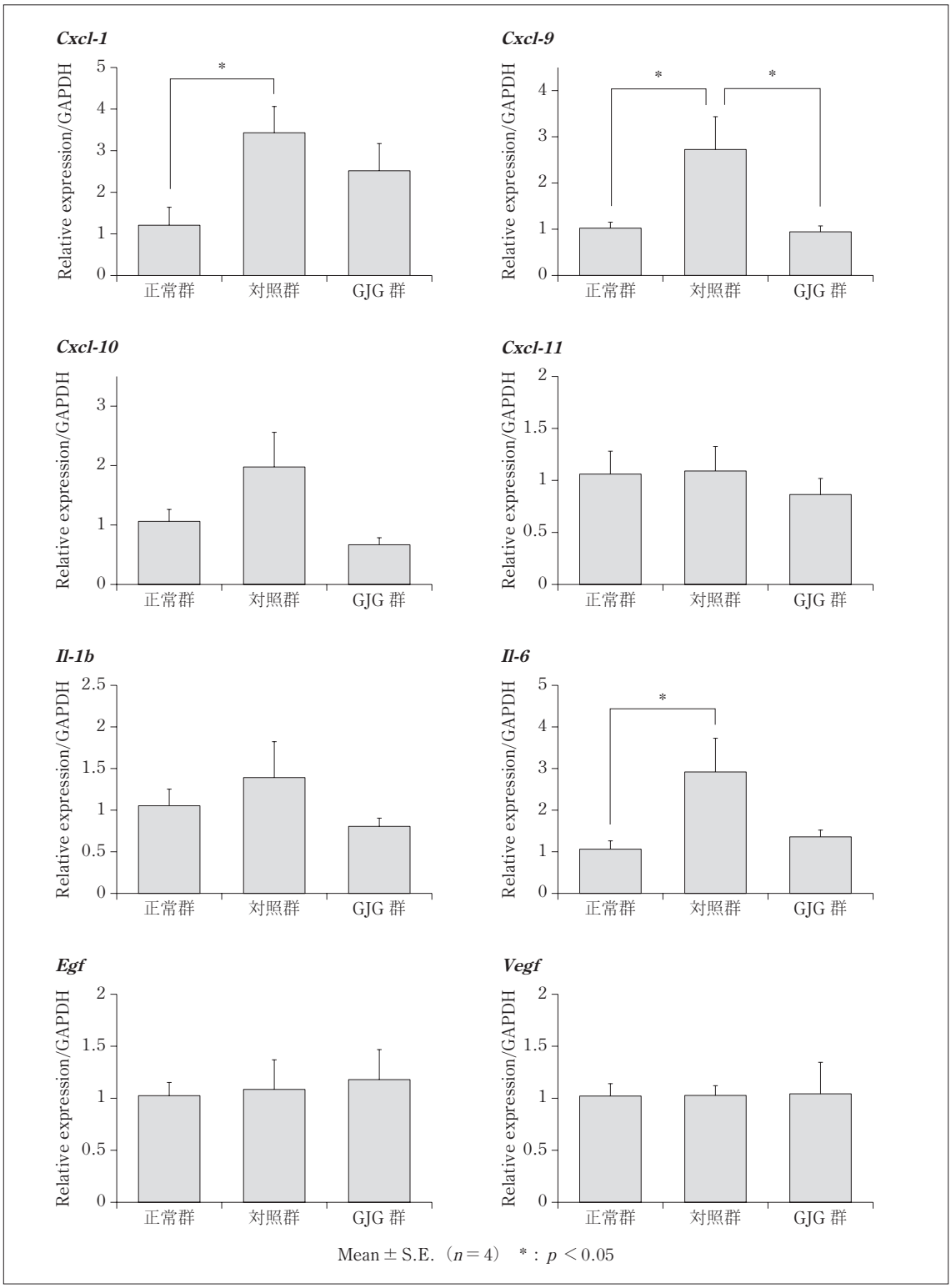



**図 4**　前立腺組織の各種 mRNA 発現量

て組織学的変化を観察した。残り半分の前立腺前葉からは，RT-qPCR 法にてケモカイン（*Cxcl-1, Cxcl-9, Cxcl-10, Cxcl-11*），インターロイキン（*Il-1β*, *Il-6*），上皮成長因子（*epidermal growth factor*：*Egf*）および血管内皮細胞増殖因子（*vascular endothelial growth factor*：*Vegf*）の mRNA 発現量を定量した。尿道からは，*Il-1b*，*Il-6*，*Vegf*，アドレナリン受容体（*Adra1a*，*Adra1d*，*Adrb3*），一酸化窒素合成酵素（*eNos*，*iNos*，*nNos*）および ATP 受容体 *P2x3* の mRNA 発現量を評価した。

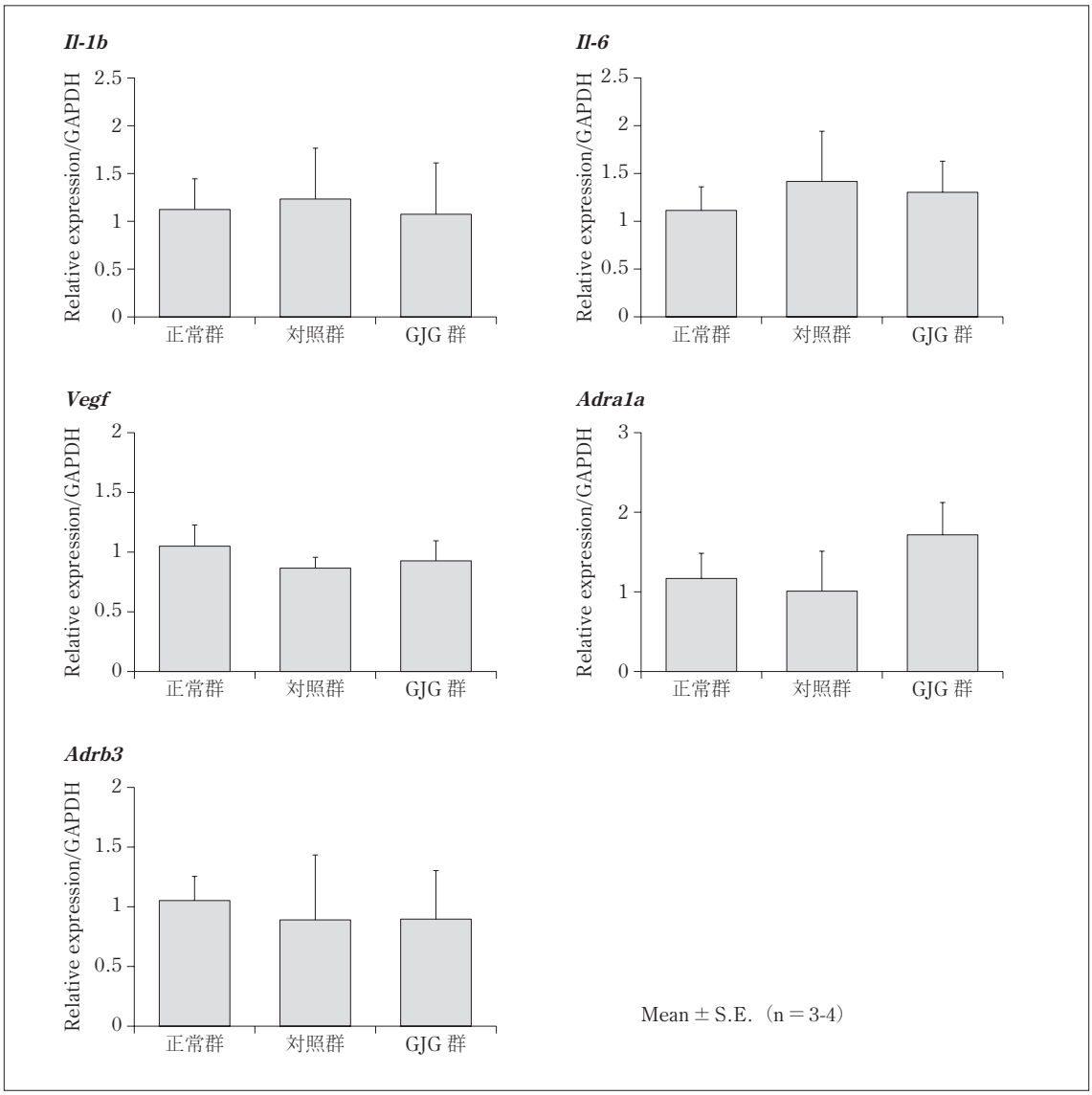



**図 5**　尿道組織の各種 mRNA 発現量

### 7. 統計解析

結果はすべて平均値 ± 標準誤差で示した。尿道閉鎖圧の測定結果については，群を個体間要因，プラゾシンの有無を個体内要因とする二元配置分散分析を行った。両要因間に有意な交互作用が認められた場合は，単純主効果検定を行い，有意であった水準についてのみ Tukey の多重比較検定を実施した。また，前立腺重量測定および遺伝子発現解析については，一元配置分散分析の後，Dunnett 多重比較検定を用いて対照群と各群（正常群，GJG 群）との比較を行った。いずれの解析においても有意水準は両側 5%とした。統計解析には Excel 統計 Ver.4.09 を使用した。

## Ⅱ．結　　果

尿道閉鎖圧測定の結果を**図 1** に示した。プラゾシン投与前において，対照群の尿道閉鎖圧は正常群と比較して上昇する傾向を示したが，統計学的な有意差には至らなかった。一方，GJG 群の尿道閉鎖圧は対照群と比較して有意に低値を示した。プラゾシンの影響として，正常群および対照群では尿道閉鎖圧の有意な低下を示し，GJG 群では有意差が認められなかった。

前立腺重量測定の結果を**図 2** に示した。正常群，対照群および GJG 群の摘出前立腺重量はそれぞれ 596 ± 29 mg，642 ± 21 mg および 629 ± 29 mg であり，EAP 誘発および GJG 投与による有意な重量

変化は認められなかった。

前立腺の HE 染色像を**図 3** に示した。正常群と比較して，対照群では前立腺上皮細胞層の肥厚が認められた。これに対し GJG 群では，対照群でみられた上皮の肥厚や炎症性変化が軽減されており，組織学的改善が確認された。

前立腺組織における mRNA 発現解析の結果を**図 4** に示した。対照群では正常群と比較して，*Cxcl-1* および *Cxcl-9* の有意な発現上昇を認め，*Cxcl-10* は増加傾向を示した。また，*Il-6* は対照群で有意に増加し，*Il-1b* も増加傾向にあった。GJG 群においては，対照群と比較して，*Cxcl-9* の発現が有意に抑制された。その他の炎症性因子 *Cxcl-1*，*Cxcl-10*，*Il-1b*，および *Il-6* についても，有意差はないものの GJG 群で低下する傾向が認められた。*Cxcl-11*，*Egf* および *Vegf* の発現量には各群間で有意な差は認められなかった。

尿道組織における mRNA 発現解析の結果を**図 5** に示した。*Adra1a* の発現量において，統計学的有意差は認められなかったものの，GJG 群のわずかな増加傾向が観察された。その他の測定項目 *Il-1b*，*Il-6*，*Vegf*，および *Adrb3* についても，各群間で有意な変動は確認されなかった。なお，*Adra1d*，*eNos*，*iNos*，*nNos*，*P2x3* の発現量は測定限界値以下であった。

## Ⅲ．考　　察

EAP モデルラットを用いて GJG の薬理作用について検討した結果，GJG 群で尿道閉鎖圧の有意な低下が認められ，GJG に尿道抵抗を軽減し排尿困難を改善する効果があることが確認された。また，平滑筋に対する GJG の影響を明らかにする目的で，$\alpha_1$ 受容体遮断薬であるプラゾシンを高用量投与し，尿道閉鎖圧の変化を評価した。プラゾシンは，前立腺や尿道の平滑筋を弛緩させる作用を有するため[12]，正常群および対照群では投与により尿道閉鎖圧が有意に低下した。一方，GJG 群ではプラゾシンの追加投与による圧低下は認められなかった。このことから，GJG によって前立腺や尿道の平滑筋が既に十分に弛緩されていたと推察される。

次に，前立腺組織への影響について検討した。組織学的評価において，対照群では前立腺上皮の肥厚といった炎症像が確認されたが，GJG 群ではこれらの組織学的変化が改善していた。また，遺伝子発現解析においても，対照群では *Cxcl-1*，*9*，*10* や *Il-6* などの炎症性メディエーターの発現が亢進していたが，GJG 群では *Cxcl-9* を有意に抑制し，*Cxcl-1* や *Cxcl-10*，*Il-1b*，*Il-6* に対しても抑制傾向を示した。なお，尿道組織の解析では炎症性サイトカインの発現に有意な変動はみられなかったことから，本モデルにおける炎症病変は前立腺局所に留まっており，尿道壁そのものへの炎症波及は軽微であったことが示唆された。

一方，本試験において前立腺重量に各群間で有意差は認められなかった。それにもかかわらず対照群で尿道閉鎖圧の上昇傾向がみられたことは，前立腺サイズの変化による閉塞ではなく，組織の質的・機能的な変化が尿道抵抗を高めていたことを示している。実際に，Zeng らは，EAP モデルラットにおいて前立腺の炎症に伴う線維化が尿道の柔軟性を低下させ，排尿困難を引き起こす可能性を報告しており[13]，Inamura らは，様々な炎症性サイトカインに平滑筋の緊張を促進させる作用があることを報告している[4]。これらを鑑みると，GJG は前立腺の炎症や平滑筋緊張等の質的・機能的な変化を是正することで排尿困難を改善したと考えられる。

GJG は八味地黄丸にゴシツおよびシャゼンシを加えた処方である。基本処方である八味地黄丸には，尿道の $\alpha_1$ 受容体を阻害し尿道平滑筋を弛緩させることで排尿困難を改善する作用が報告されている[14]。加えて，構成生薬のうちサンシュユ，タクシャ，ブクリョウ，ボタンピ，およびケイヒは，単味エキスとしても尿道平滑筋に対して抑制作用を有することが示されている[14]。今回，尿道組織の遺伝子解析において GJG 群の *Adra1a* にわずかな増加傾向が認められたが，これは GJG が八味地黄丸と同様に尿道の $\alpha_1$ 受容体を阻害した結果，フィードバック機構が働き，$\alpha_1$ 受容体発現量が増加した可能性などが考えられる。また，構成生薬であるボタンピ，ブシ，シャゼンシには抗炎症作用が報告されており[15]，GJG はこれら生薬の働きにより前立腺に対して抗炎症作用を示した可能性が考えられる。これらから，GJG は構成生薬がもつ平滑筋弛緩作用および抗炎症作用によって，前立腺の炎症に伴う排尿困難に対して効果を示したと推察される。

以上，本研究の結果から，GJG は前立腺や尿道

における平滑筋弛緩作用，および抗炎症作用を示すことで，亢進した尿道閉鎖圧を正常化させ，排尿困難を改善させると考えられた。

## Ⅳ. 引 用 文 献


1）日本泌尿器科学会 編：男性下部尿路症状・前立腺肥大症診療ガイドライン．リッチヒルメディカル株式会社，東京，2017.
2）医療情報科学研究所 編：病気がみえる vol. 8 腎・泌尿器（第 2 版）．株式会社メディックメディア，東京，2014.
3）Nickel JC, Roehrborn CG, O'Leary MP, Bostwick DG, Somerville MC, Rittmaster RS: The relationship between prostate inflammation and lower urinary tract symptoms: examination of baseline data from the REDUCE trial. Eur Urol **54**: 1379-1384, 2008.
4）Inamura S, Terada N: Chronic inflammation in benign prostatic hyperplasia: Pathophysiology and treatment options. Int J Urol **31**: 968-974, 2024.
5）Kramer G, Mitteregger D, Marberger M: Is benign prostatic hyperplasia (BPH) an immune inflammatory disease? Eur Urol **51**: 1202-1216, 2007.
6）Motrich RD, Maccioni M, Riera CM, Rivero VE: Autoimmune prostatitis: state of the art. Scand J Immunol **66**: 217-227, 2007.
7）Zhang M, Luo C, Cui K, Xiong T, Chen Z: Chronic inflammation promotes proliferation in the prostatic stroma in rats with experimental autoimmune prostatitis: study for a novel method of inducing benign prostatic hyperplasia in a rat model. World J Urol **38**: 2933-2943, 2020.
8）Liu Y, Shao R, Suo T, Zhu J, Liu E, Wang Y, Miao L, Gao X: Traditional Chinese Medicine Danzhi qing'e decoction inhibits inflammation-associated prostatic hyperplasia via inactivation of ERK1/2 signal pathway. J Ethnopharmacol **309**: 116354, 2023.
9）桑木崇秀：健保適用エキス剤による漢方診療ハンドブック（第 4 版）．創元社，大阪，2020.
10）渡部明彦，赤石拓也，藤内靖喜，水野一郎，永川修，布施秀樹：頻尿に対する牛車腎気丸の効果．泌尿紀要 **52**: 197-201, 2006.
11）第十九改正日本薬局方，令和 8 年 4 月 10 日厚生労働省公示第 193 号.
12）北村正樹：排尿障害治療薬．耳鼻咽喉科展望 **52**: 108-110, 2009.
13）Zeng H, He Y, Yu Y, Zhang J, Zeng X, Gong F, Liu Q, Yang B: Resveratrol improves prostate fibrosis during progression of urinary dysfunction in chronic prostatitis by mast cell suppression. Mol Med Rep **17**: 918-924, 2018.
14）田中奈保子，山下明，小坂昇：摘出ラット尿道平滑筋および横隔膜神経筋収縮に対する八味地黄丸の作用．和漢医薬学雑誌 **15**: 181-188, 1998.
15）池内隆夫，井口宏，吉川裕康：尿路不定愁訴症候群に対する漢方薬の薬効評価法に関する研究 牛車腎気丸の臨床的有用性の検討．泌尿器外科 **9**: 1207-1211, 1996.