

大柴胡湯エキスの経口投与がラットの小腸の 機能ならびに形態に及ぼす影響

宮田 富弘*, 荻野 浩伸, 奥田 拓道

愛媛大学医学部生化学第二教室

Effect of oral administration of Dai-saiko-tô (Da-Chai-Hu-Tang) extract on function and morphology of small intestine in rats

Tomihiko MIYADA*, Hironobu OGINO and Hiromichi OKUDA

Department of Medical Biochemistry, School of Medicine, Ehime University

(Received September 22, 1986. Accepted November 26, 1986.)

Abstract

We investigated the effect of oral administration of Dai-saiko-tô (Da-Chai-Hu-Tang) extract on the function and morphology of small intestine in rats. Animals were fed a basal diet (B diet), a B diet + 0.5% (W/W) Dai-saiko-tô extract or a B diet + 1.0% (W/W) Dai-saiko-tô extract for 7 weeks. The addition of Dai-saiko-tô extract to the B diet did not influence the growth and the food intake, while the Dai-saiko-tô extract increased significantly the fecal output in rats. The oral administration of Dai-saiko-tô extract induced the elongation of small intestine in rats. This elongation of the intestine accompanied with the mucosal hyperplasia as measured by increased total DNA content and the increase of total activities of mucosal sucrase. These results suggest that the oral administration of Dai-saiko-tô extract may influence the function and morphology of small intestine in rats.

Key words Dai-saiko-tô (Da-Chai-Hu-Tang) extract, oral administration, function, morphology, small intestine

Abbreviation Dai-saiko-tô (Da-Chai-Hu-Tang), 大柴胡湯

緒 言

大柴胡湯は脂質代謝改善作用^{1,2)}あるいは肝障害改善作用^{3,4)}を有することが知られている漢方処方のひとつであり、臨床的には経口投与でその薬効が確認され、脂質代謝異常疾患や肝疾患等の治療に用いられている。

大柴胡湯を経口投与した場合、大柴胡湯と直接的に接触する部位は消化管腔内である。それゆえ、大柴胡湯の経口投与が長期間継続すると、消化管に機能的あるいは形態的变化が生じる可能性が考えられる。また経口投与の場合、大柴胡湯の薬効は有効成

分が消化管から吸収されたのちに発現すると考えられるので、消化管で生じた変化が大柴胡湯の薬効発現に影響することと考えられる。

したがって、大柴胡湯の薬効を検討するうえで、大柴胡湯が消化管に及ぼす影響について理解しておく必要があると思われる。そこで、著者らは大柴胡湯エキスの経口投与が小腸の機能ならびに形態に及ぼす影響について生化学的に検討した。

材料と方法

(1) 飼料：飼料には、カゼイン；20%，コーン油；5%，ミネラル混合物⁵⁾；4%，ビタミン混合

*〒791-02 愛媛県温泉郡重信町大字志津川
Shigenobu, Onsen-gun 791-02, Japan

物⁵⁾；1%，ショ糖により全量を100%とした基本飼料と、これに大柴胡湯エキス粉末を0.5%添加した飼料（0.5%大柴胡湯飼料）および1.0%添加した飼料（1.0%大柴胡湯飼料）を用いた。大柴胡湯エキス粉末はカネボウ製薬より供されたものを使用した。

(2) 実験動物と飼育法：ウィスター系雄性ラット（体重約150g：日本チャールズリバー社）に基本飼料を7日間与え予備飼育したのち、体重に従って各群5匹ずつ3群に分け各々基本飼料（対照群），0.5%大柴胡湯飼料（0.5%大柴胡湯群）および1.0%大柴胡湯飼料（1.0%大柴胡湯群）を与えた。ラットをステンレス製ケージに個別に入れ、12時間交替の照明下、23±1℃に調節した動物室で7週間飼育した。飼料ならびに飼料水は自由摂取させた。飼料摂取量は毎朝測定し、体重は毎週測定した。

(3) 測定項目とその方法：1）糞排泄量；実験飼料に換えてから24日目より5日間に測定した。24時間分の糞を毎朝採取し、105℃に保った電気定温乾燥器に入れ、恒量とし、それを1日あたりの糞乾燥重量とした。なお、糞排泄量は摂取された飼料100gあたりの排泄量として表した。2）小腸全腸ならびに小腸組織、粘膜および筋層湿重量；第7週目の終りにラットを放血屠殺し、直ちに開腹してトライツの靱帯から回盲接合部までの小腸を摘出した。小腸内容物を氷冷生理食塩水で洗い出し、付着している腸間膜や脂肪組織をできる限り取り除いた。小腸の全長を小腸の一端を固定して鉛直方向にたらしした状態で測定した後、小腸を二等分し、前半部を空腸、後半部を回腸とした。空腸ならびに回腸の組織湿重量を測定したのち、各断片を縦に切開し、顕微鏡用カバーガラスを用いて粘膜部分を定量的に採取し、粘膜湿重量を測定した。筋層湿重量は組織湿重量から粘膜重量を差し引いて求めた。3）小腸粘膜のたんぱく質、RNAおよびDNA含量；空腸あるいは回腸粘膜を氷冷蒸留水中でガラス-テフロンホモゲナイザーを用いて破碎し、これを氷冷蒸留水で25mlに希釈した粘膜懸濁液を得た。この粘膜懸濁液をSchmidt-Thanhauser-Schneider法⁶⁾に準じて分画し、RNA画分およびDNA画分を得た。RNA含量はパン酵母RNA（Sigma Chemical Co.）を標準としてオルシノール法⁷⁾で、DNA含量は牛胸腺DNA（Sigma Chemical Co.）を標準としてジフェニルアミン法⁸⁾で測定した。タンパク含量は、粘膜懸濁液の5% TCA沈殿画分をアルカリ可溶化して、牛血清アルブミン（和光純薬工業社）を標準としてLowry法⁹⁾で測定した。4）小腸粘

膜のスクラーゼ活性；上記のように調製した空腸および回腸の粘膜懸濁液中のスクラーゼ活性をDahlqvistの方法¹⁰⁾に準じて測定した。粘膜懸濁液の一定量を56mMスクロースを含む0.1Mリン酸緩衝液中で、37℃10分間インキュベーションした。沸騰水中に2分間放置して酵素反応を止め、遊離したブドウ糖をグルコースオキシダーゼ法（グルコース-Bテスト；和光純薬工業社）で定量した。スクラーゼ活性は、酵素反応により37℃、1分間に遊離したブドウ糖のμmolで表した。

結 果

1. 体重増加量、飼料摂取量ならびに糞排泄量に及ぼす大柴胡湯エキスの影響

結果をTable Iに示した。ラットの体重増加量および飼料摂取量は大柴胡湯エキスを飼料中に0.5%あるいは1.0%濃度で添加しても全く変化しなかった。これに対し、糞排泄量は大柴胡湯エキス添加によってわずかながら有意に増加しており、その増加は大柴胡湯エキスの添加量の増加と一致していた。なお、飼料摂取量および実験期間中の平均体重から換算すると、各ラット1匹あたりの1日の大柴胡湯エキスの平均摂取量は、0.5%大柴胡湯群で0.5g/kg体重および1.0%大柴胡湯群で1.0g/kg体重であった。この大柴胡湯エキス摂取量はヒトに対する投与量のほぼ10～20倍である。

2. 小腸組織に及ぼす大柴胡湯エキスの影響

結果をTable IIに示した。小腸の長さは両大柴胡湯群において対照群より有意に長くなっていた。しかし、組織湿重量には3群間に有意な差が認められなかった。空腸および回腸の粘膜湿重量は大柴胡湯エキスを摂取しても何ら変化しなかったが、筋層湿重量は1.0%大柴胡湯群で対照群より有意に増加していた。

3. 小腸粘膜の形態に及ぼす大柴胡湯エキスの影響

結果をTable IIIに示した。空腸粘膜全DNA含量は0.5%大柴胡湯群および1.0%大柴胡湯群の両群で対照群より有意に増加していた。回腸粘膜全DNA含量も対照群に比べ両大柴胡湯群ともわずかながら有意に増加していた。一方、粘膜Protein/DNAおよびRNA/DNAは空腸あるいは回腸ともに3群間で全く変化しなかった。

4. 小腸粘膜スクラーゼ活性に及ぼす大柴胡湯エキスの影響

結果をTable IVに示した。空腸粘膜の全スク

Table I Effect of oral administration of Dai-saiko-tô extract on body weight gain, food intake and fecal output in rats.

Diet	Body weight ¹	Food intake	Fecal ² output
	g/rat/day	g/rat/day	g/rat
Basal diet (B)	4.6±0.1 ^{a,3}	20.0±0.3 ^a	3.04±0.11 ^a
B+0.5% Dai-saiko-tô extract	4.7±0.1 ^a	20.7±0.3 ^a	3.33±0.07 ^b
B+1.0% Dai-saiko-tô extract	4.7±0.2 ^a	21.0±0.4 ^a	3.48±0.04 ^b

1 : Average initial body weight was 153 g, (range : 147 to 158 g).

2 : Fecal collection was done for 5 days from the 24th day to the 28th day in the experimental period. Values were dry weights of feces excreted per 100 g diet consumed.

3 : Mean±SEM (n=5), values sharing a superscript letter ; a are not significantly and values sharing a superscript letter ; b are significantly different from the group fed a basal diet at $p < 0.05$. Differences among means were determined by using Student's *t*-test.

Table II Effect of oral administration of Dai-saiko-tô extract on tissue morphology of small intestine in rats.

Diet	Total length	Tissue weight	Jejunum		Ileum	
			Mucosal weight	Muscular weight	Mucosal weight	Muscular weight
	cm	mg/cm/tissue	mg/cm	tissue	mg/cm	tissue
Basal diet (B)	94±1 ^{a,1}	63±3 ^a	51±2 ^a	21±1 ^a	38±3 ^a	16±1 ^a
B+0.5% Dai-saiko-tô extract	99±2 ^b	66±1 ^a	56±3 ^a	19±2 ^a	40±2 ^a	16±1 ^a
B+1.0% Dai-saiko-tô extract	102±2 ^b	66±1 ^a	53±1 ^a	24±1 ^b	39±1 ^a	15±1 ^a

1 : See footnote 3 in Table I.

Table III Effect of oral administration of Dai-saiko-tô extract on mucosal morphology of small intestine in rats.

Diet	Total DNA content	Protein DNA	RNA DNA
	mg/mucosa	mg/mg	mg/mg
Jejunum mucosa			
Basal diet (B)	7.65±0.52 ^{a,1}	19.4±0.6 ^a	1.79±0.08 ^a
B+0.5% Dai-saiko-tô extract	9.21±0.22 ^b	17.2±0.7 ^a	1.67±0.04 ^a
B+1.0% Dai-saiko-tô extract	9.19±0.56 ^b	18.7±0.3 ^a	1.79±0.02 ^a
Ileal mucosa			
Basal diet (B)	5.10±0.35 ^a	16.1±0.7 ^a	1.35±0.06 ^a
B+0.5% Dai-saiko-tô extract	6.04±0.24 ^b	17.2±0.9 ^a	1.50±0.10 ^a
B+1.0% Dai-saiko-tô extract	6.54±0.18 ^b	17.3±0.3 ^a	1.52±0.07 ^a

1 : See footnote 3 in Table I.

Table IV Effect of oral administration of Dai-saiko-tô extract on mucosal sucrase activities of small intestine in rats.

Diet	Sucrase activity			
	Jejunum mucosa		Ileal mucosa	
	U ¹ /mucosa	U/mg DNA	U/mucosa	U/mg DNA
Basal diet (B)	28.0±1.4 ^{a,2}	3.75±0.38 ^a	10.0±0.6 ^a	1.93±0.10 ^a
B+0.5% Dai-saiko-tô extract	31.3±1.8 ^a	3.40±0.19 ^a	11.8±0.3 ^b	1.97±0.12 ^a
B+1.0% Dai-saiko-tô extract	33.2±1.7 ^b	3.60±0.28 ^a	11.9±0.4 ^b	1.83±0.04 ^a

1 : Micromoles of glucose produced per min at 37°C. 2 : See footnote 3 in Table I.

ラーゼ活性（活性／空腸粘膜）は対照群に比べ1.0%大柴胡湯群で有意に増加し、0.5%大柴胡湯群においても増加傾向にあった。しかしながら、空腸粘膜のDNAあたりのスクラーゼ活性には3群間に有意な差は認められなかった。空腸粘膜に対し回腸粘膜においては、DNAあたりのスクラーゼ活性には3群間で有意な差が認められないものの、全スクラーゼ活性は1.0%大柴胡湯群はもちろん0.5%大柴胡湯群においても有意に増加していた。

考 察

漢方方剤は大柴胡湯を含めて、そのほとんどが経口投与でその薬効が確認されており、種々の疾患の治療に今日まで用いられている。したがって、大柴胡湯の経口投与が消化管に及ぼす影響について十分に理解しておく必要があると思われる。本研究では、大柴胡湯エキスの経口投与が小腸の機能ならびに形態に及ぼす影響について生化学的に検討した。

飼料中に大柴胡湯エキスを0.5%あるいは1.0%添加してもラットの成長および飼料摂取量には全く影響が認められなかった（Table I）。同様の結果を織田ら¹¹⁾も報告している。糞の排泄量は飼料中への大柴胡湯エキスの添加によってわずかではあるが有意に増加していた。これは、おそらく、大柴胡湯エキス中の難消化性成分によるものと思われる。しかしながら、糞排泄量の増加は栄養素の消化吸収が阻害された場合にも生じるので、この点に関しても考慮する必要があるだろう。たとえば大柴胡湯が脂質の消化吸収を抑制することが報告¹²⁾されている。

本研究において、大柴胡湯エキスの経口投与が小腸の形態に有意な影響を及ぼすことが示された（Table II, III）。小腸の長さは0.5%大柴胡湯群および1.0%大柴胡湯群の両方で対照群より有意に長くなっていた。このとき、単位長さあたりの組織湿重量には有意な差が認められていないことから、大柴胡湯投与群の小腸の伸長は単なるストレッチングによるものではないようである。また、空腸および回腸の粘膜湿重量には3群間に有意な差は認められなかったが、筋層湿重量は1.0%大柴胡湯群でのみ対照群より有意に増加していた。筋層湿重量の増加は、大柴胡湯群の小腸で蠕動運動能力などの機能的亢進が生じている可能性を示唆している。このように大柴胡湯が小腸の運動機能にも影響を及ぼすことが考えられる。

大柴胡湯エキスを経口投与すると小腸粘膜全DNA含量が有意に増加した（Table III）。この結

果は、大柴胡湯エキスの経口投与によって小腸粘膜細胞の増殖が誘導されたことを示唆している。おそらく、この粘膜細胞の増殖は小腸の伸長に伴って生じたものであろう。一方、粘膜のProtein/DNAあるいはRNA/DNAには大柴胡湯エキス摂取によっても全く変化しなかったことから、大柴胡湯エキスは粘膜細胞の大きさあるいはたんぱく質合成能にはほとんど影響しないものと考えられる。

池上ら¹³⁾は、水溶性難消化性多糖類であるK-カラギナン、アルギン酸ナトリウムあるいはペクチンを5%濃度で添加した飼料をラットに摂取させると糞排泄量が増加し、小腸が伸長することを報告している。また、Tasman-Jonesら¹⁴⁾はペクチンを10%濃度で添加した飼料を摂取するとラットの小腸絨毛の発達が促進されることを報告している。大柴胡湯エキスを飼料中に添加すると糞排泄量が増加することから、大柴胡湯エキス中の難消化性成分が小腸の伸長や粘膜細胞の増殖に関与している可能性が考えられる。しかしながら、大柴胡湯エキスをわずか0.5%濃度で飼料中に添加した場合にも小腸の形態的变化が生じていることは興味深い。消化管の形態や機能は消化管ホルモンや自律神経系の支配を受けて調節されている。したがって大柴胡湯エキスが消化管ホルモンの分泌量や神経調節を変化させている可能性も考えられる。

空腸および回腸の全スクラーゼ活性は大柴胡湯エキス投与によって有意に増加するかあるいは増加傾向にあったが、DNAあたりのスクラーゼ活性には有意な差が認められなかった（Table IV）。大柴胡湯エキスによる全スクラーゼ活性の増加は小腸の伸長、ひいては粘膜細胞の増殖に伴うものであると考えられる。前述のように大柴胡湯が栄養素の消化吸収を阻害する可能性が考えられるので全スクラーゼ活性の増加はこれに伴う適応的变化であるとも考えられる。

以上のように大柴胡湯エキスの経口投与は小腸の機能や形態に有意な影響を及ぼすことが明らかになった。しかしながら、その影響の生理学的意義あるいはそのメカニズムについては不明である。この点について今後の詳細な研究が望まれる。

結 論

ラットに大柴胡湯エキスを経口投与し、小腸の機能ならびに形態に及ぼす大柴胡湯エキスの影響について生化学的に検討した。

大柴胡湯エキスの経口投与によって小腸は有意に

伸長した。この小腸の伸長は、粘膜全 DNA 含量の増加で示されるような粘膜細胞の増殖および粘膜全スクラーゼ活性の増加を伴っていた。これらの結果は、大柴胡湯エキスの経口投与が小腸の機能および形態に有意な影響を及ぼすことを示唆している。

文 献

- 1) 石原結實, 矢野寛敏, 井上忠是, 佐野史良: 大柴胡湯の臨床治験, 臨床と研究 **59**, 130-136, 1984
- 2) 速水一雄, 星野恒夫: 大柴胡湯の脂質代謝に及ぼす効果について (第一報), 医学と薬学 **12**, 233-236, 1984
- 3) 太田好次, 佐々木恵美, 中村紀美, 石黒伊三雄, 永田稔, 原田治良: 大柴胡湯エキスの経口投与による実験的肝障害改善作用, 和漢医薬学会誌 **2**, 424-433, 1985
- 4) 加藤正秀, 丸本正彦, 林真知子, 前田利男, 林 栄一: 柴胡剤の薬理学的研究 (第 6 報) 小柴胡湯の D-galactosamine 肝障害ラットに対する作用, 薬学雑誌 **104**, 798-804, 1984
- 5) Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* **107**, 1340-1348, 1977
- 6) Schneider, W.C.: Phosphorus compounds in animal tissues: A comparison of methods for the estimation of nucleic acids. *J. Biol. Chem.* **164**, 747-751, 1946
- 7) Munro, H.N. and Fleck, A.: Recent developments in the measurement of nucleic acids in biological materials. *Analyst.* **91**, 78-88, 1966
- 8) Croft, D.N. and Lubran, M.: The estimation of deoxyribonucleic acid in the presence of sialic acid: Application to analysis of human gastric washings. *Biochem. J.* **95**, 612-620, 1965
- 9) Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275, 1951
- 10) Dahlqvist, A.: Method for assay of intestinal disaccharidase. *Anal. Biochem.* **7**, 18-25, 1964
- 11) 織田真智子, 阿部博子, 有地 滋, 鈴木有朋: 高血圧症ラットに対する大柴胡湯, 桂枝茯苓丸の作用, 和漢医薬学会誌 **2**, 452-456, 1985
- 12) 齊藤 隆: 漢方方劑大柴胡湯及び柴胡中の Saponin 成分の実験的高脂血症に対する効果, 東医大誌 **40**, 517-529, 1982
- 13) 池上幸江, 土橋 昇, 永山スミ子, 原田広和, 西出英一, 印 南敏: ラットの消化吸収に及ぼす難消化性多糖類の影響, 栄食誌 **36**, 163-168, 1983
- 14) Tasman-Jones, C., Jones, A.L. and Owen, R.L.: Jejunal morphological consequences of dietary fiber in rats. *Gastroenterology* **74**, 1102-1110, 1978