

催胆汁うっ滞因子活性に及ぼす Gomisin A の影響

木岡 清英,^{a)}溝口 靖紘,^{a)} 阪上 千博,^{a)} 小林 絢三,^{a)} 森沢 成司,^{b)} 山本 祐夫^{c)}

^{a)}大阪市立大学第三内科, ^{b)}大阪市立大学第一生化学, ^{c)}大阪社会医療センター

Effect of Gomisin A on the cholestatic factor activity

Kiyohide KIOKA,^{a)} Yasuhiro MIZOGUCHI,^{a)} Chihiro SAKAGAMI,^{a)}
Kenzo KOBAYASHI,^{a)} Seiji MORISAWA^{b)} and Sukeo YAMAMOTO^{c)}

^{a)}The Third Department of Internal Medicine, Osaka City University Medical School

^{b)}The First Department of Biochemistry, Osaka City University Medical School

^{c)}Osaka Socio Medical Center Hospital

(Received November 13, 1991. Accepted February 18, 1992.)

Abstract

Gomisin A, a kind of dibenzo-cyclooctadiene lignan inhibited the activity of cholestatic factor, a kind of lymphokine which induced the intrahepatic cholestasis, Gomisin A increased the discharge of the insulin to the bile in cholestatic factor-treated rats.

It was thought that Gomisin A might inhibit the activity of cholestatic factor through the increase of the bile discharge by the vesicular transport system.

Key words cholestatic factor, Gomisin A, intrahepatic cholestasis, lymphokine, vesicular transport.

緒 言

Gomisin A はマツバサ科のチョウセンゴミシ (*Schizandra chinensis* BAILL.) に含有される dibenzo-cyclooctadiene 型 lignan であり,¹⁾ Fig. 1 に示す化学構造を有する。既に、この Gomisin A は実験的肝障害を抑制することや、²⁻⁴⁾ 肝臓での蛋白合成を促進すること、⁴⁾ 肝部分切除後の肝再生を促進すること、⁵⁾ 肝細胞保護作用⁶⁾ など肝臓に対して種々の作用を有することが明らかにされている。しかしながら、肝内胆汁うっ滞に対する Gomisin A の作用についてはほとんど明らかにされていない。

一方、著者らは先に肝内胆汁うっ滞の多くが一種のリンホカインである催胆汁うっ滞因子 (cholestatic factor) によって誘導されることを明らかにし、^{7,8)} 肝内胆汁うっ滞誘導機構について研究を進めている。この催胆汁うっ滞因子は、主として毛細管胆汁の形成を抑制し、⁹⁾ 胆汁酸依存性および非依存性の胆汁排泄を抑制し、⁹⁾ vesicular transport system

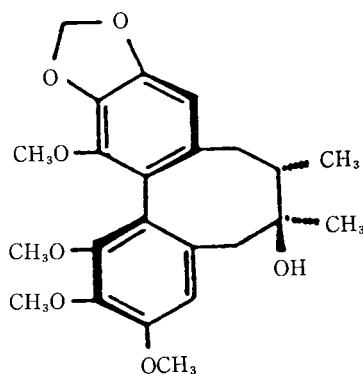


Fig. 1 Chemical structure of Gomisin A.

による胆汁分泌も抑制すること^{10,11)} が既に明らかにされている。そこで、この催胆汁うっ滞因子に対して、Gomisin A がどのように作用するかを検討することによって肝内胆汁うっ滞に対する Gomisin A の効果を解析することを試みた。

*〒545 大阪市阿倍野区旭町 1-5-7
1-5-7 Asahimachi, Abenoku, Osaka 545, Japan

材料と方法

(1) **Gomisin A の胆汁流量に及ぼす影響**：体重 250-350 g の Wistar 系雄性ラットの腹腔内にペントバルビタール (30 mg/kg 体重) を注入して麻酔し、開腹して総胆管にポリエチレンチューブ (PE 10, Clay Adams 社製) を挿入して胆汁を体外に誘導した。カニキュレーション後 30 分間、胆汁を自然流出させてその量を測定し、ついで既報¹²⁾の方法に従って作製した部分精製催胆汁うっ滞因子 (10 µg/ml) 1 ml を腸間膜静脈より緩やかに注入した。注入後、1 時間毎に胆汁を集め、その量を測定して単位時間当たりの胆汁流出量として胆汁うっ滞活性を計測した。なお、Gomisin A の催胆汁うっ滞因子活性 (胆汁流量低下作用) に対する影響を検討するために催胆汁うっ滞因子の投与 1 時間前に 50 mg/kg 体重の Gomisin A を十二指腸内に注入し、胆汁うっ滞活性を計測した。

(2) **[¹²⁵I] insulin の胆汁中排泄に及ぼす Gomisin A の影響**：[¹²⁵I] insulin の胆汁中排泄に及ぼす影響は宮島らの方法^{10, 11)}に準じて行なった。すなわち、前述のようにラットにカニキュレーションした後、30 分間、胆汁を自然流出させてその量を測定し、ついで前述の部分精製催胆汁うっ滞因子 (10 µg/ml) 1 ml を腸間膜静脈より緩やかに注入した。さらに注入 120 分後に 10 nM の [¹²⁵I] insulin (NEN 社製) 300 µl を注入した。[¹²⁵I] insulin 注入後、0-10 分、10-20 分、20-30 分、30-40 分、40-50 分、50-60 分に流出した胆汁を集め、それぞれの容量を測定するとともに、その中に含まれる [¹²⁵I] insulin の放射活性を γ カウンターで測定した。なお、[¹²⁵I] insulin の胆汁中排泄に及ぼす Gomisin A の影響を検討するために催胆汁うっ滞因子の投与 1 時間前に 50 mg/kg 体重の Gomisin A を十二指腸内に注入し、[¹²⁵I] insulin の胆汁中排泄量を計測した。

結 果

1. Gomisin A の胆汁流量に及ぼす影響

Fig. 2 に示すように生理的食塩水を腸間膜静脈に注入してもほとんど胆汁流量は変化しないが、催胆汁うっ滞因子を投与すると胆汁流量は著明に減少し、注入 2-3 時間後には前値の約 50% まで減少した。一方、Gomisin A を単独で投与しても胆汁流量はほとんど変化しなかったが、催胆汁うっ滞因子

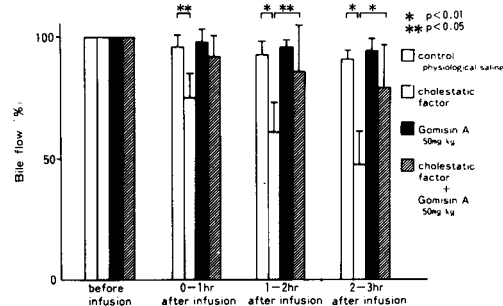


Fig. 2 Effect of Gomisin A on the bile flow of cholestatic factor-treated rats. Gomisin A (50 mg/kg) was injected into the duodenum 1 hour before the infusion of the cholestatic factor.

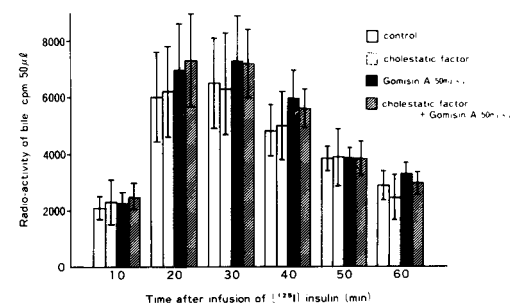


Fig. 3 Effect of Gomisin A on the concentration of [¹²⁵I] insulin in the bile of cholestatic factor-treated rats.

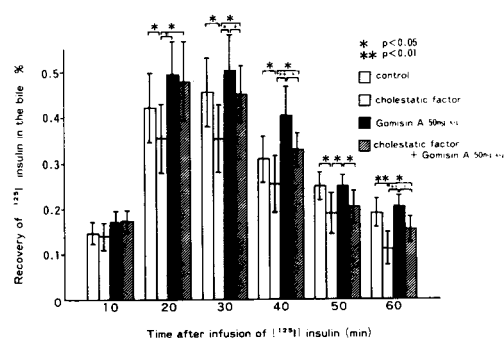


Fig. 4 Effect of Gomisin A on the discharge of [¹²⁵I] insulin to the bile of cholestatic factor-treated rats.

投与1時間前に Gomisin A を投与すると、催胆汁うっ滞因子による胆汁流量の減少が抑制され、催胆汁うっ滞因子注入2-3時間後においても、前値の約80%の胆汁流量を維持していた。しかし、催胆汁うっ滞因子と同時に Gomisin A を投与しても胆汁流量には影響しなかった。

2. Gomisin A の [125 I] insulin の胆汁中排泄に及ぼす影響

Fig. 3 は [125 I] insulin 注入後、0-10分、10-20分、20-30分、30-40分、40-50分、50-60分に流出したそれぞれの胆汁50 μ l 中の放射活性を示す。生理的食塩水を投与した対照群、催胆汁うっ滞因子投与群、Gomisin A 投与群、催胆汁うっ滞因子および Gomisin A 投与群の4群間に差は認められず、いずれの群も、[125 I] insulin 注入後、10-30分で胆汁中の [125 I] insulin 濃度は最高値に達し、以後、暫減した。そこで、単位時間当たりの胆汁中への [125 I] insulin 排泄量を検討するために [125 I] insulin 濃度に胆汁流量をかけあわせて、[125 I] insulin 排泄量を算出した。その結果を Fig. 4 に示す。胆汁中への [125 I] insulin 排泄量は注入後10-30分で、4群とも最高に達した。対照群と Gomisin A 投与群の間には [125 I] insulin 排泄量に差はなかったが、催胆汁うっ滞因子投与群は対照群に比し、有意に減少した。一方、催胆汁うっ滞因子に Gomisin A を投与すると、催胆汁うっ滞因子による [125 I] insulin 排泄低下が抑制された。

考 察

生薬五味子の含有成分である Gomisin A は著明な肝障害抑制作用^{2,4)}や肝再生促進作用⁵⁾を有することが報告されている。しかしながら、肝内胆汁うっ滞に対する Gomisin A の作用についてはほとんど明らかにされていない。

著者らは既に、肝内胆汁うっ滞の多くが、一種のリンホカインである催胆汁うっ滞因子によって誘導されることを明らかにしている^{7,8)}。この催胆汁うっ滞因子は、胆汁酸依存性および非依存性の胆汁排泄を抑制し、主として毛細管胆汁の形成を抑制すること⁹⁾が明らかにされている。また、 125 I 標識 IgA および 125 I 標識 insulin を用いた実験^{10,11)}から vesicular transport system による胆汁分泌も抑制することが示されている。さらにコルヒチンを用いた実験¹³⁾から、催胆汁うっ滞因子は microfilament に作用することが示唆されている。また、催胆汁うっ滞因子は肝細胞に作用して細胞内の cyclic AMP

量を減少させることによって、胆汁酸非依存性の胆汁排泄を抑制している可能性が示唆されている¹⁴⁾。しかしながら、 14 C-sucrose を用いた実験¹⁵⁾から、催胆汁うっ滞因子は tight junction の透過性には影響を与えないことが示されている。

そこで、このような作用機構を有する催胆汁うっ滞因子に対して Gomisin A がどのように作用するかを検討することによって、肝内胆汁うっ滞に対する Gomisin A の効果を解析することを試みた。その結果、Gomisin A は Fig. 2 に示すように、催胆汁うっ滞因子の有する胆汁流量低下作用に対して抑制的に作用した。また、Fig. 3, 4 に示すように、催胆汁うっ滞因子の有する 125 I 標識 insulin の胆汁中への排泄抑制作用に対しても抑制的に作用した。しかし、Gomisin A 単独では、胆汁流量および 125 I 標識 insulin の胆汁中排泄のいずれにも影響しなかった。

以上より、Gomisin A は催胆汁うっ滞因子の作用に対して抑制的に作用し、その作用機構の一つとして Gomisin A が催胆汁うっ滞因子による vesicular transport system に対する抑制作用を抑制すると考えられる。すなわち、胆汁酸の肝細胞内での重要な輸送機構の一つである vesicular transport system を催胆汁うっ滞因子が抑制して、肝内胆汁うっ滞を誘導するが^{10,11)}この催胆汁うっ滞因子による vesicular transport system の抑制に対して Gomisin A が拮抗的に作用して肝内胆汁うっ滞を抑制すると考えられる。

いずれにしても Gomisin A が催胆汁うっ滞因子に対して拮抗的に作用することから、Gomisin A は肝細胞障害のみならず、肝内胆汁うっ滞の治療にも有用である可能性が示唆された。

結 論

肝内胆汁うっ滞を誘導するリンホカインである催胆汁うっ滞因子に対して Gomisin A は抑制的に作用した。この抑制作用のひとつのメカニズムとして Gomisin A が vesicular transport system を介して催胆汁うっ滞因子による肝内胆汁うっ滞の誘導を抑制すると考えられた。

文 献

- 1) Ikeya, Y., Taguchi, H., Yoshioka, I. and Kobayashi, H.: The constituents of *Schizandra chinensis* BAILL. I. Isolation and structure determination of five new

- lignans, Gomisin A, B, C, F and G, and the absolute structure of Schizandrin. *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 1383-1394, 1979.
- 2) 前田信也, 須藤和彦, 宮本吉昌, 竹田茂文, 新保真澄, 油田正樹, 池谷幸信, 田口平八郎, 原田正敏: 五味子の薬理学的研究 (第2報) 五味子成分の薬物性肝障害に対する作用. *薬学雑誌* **102**, 579-588, 1982.
- 3) 筒井ひろ子, 溝口靖紘, 宮島慶治, 阪上吉秀, 東森俊博, 小林絢三, 山本祐夫, 森沢成司, 大倉靖史: 実験的急性肝障害に対する Gomisin A の防御作用. *日消誌* **84**, 670-674, 1987.
- 4) 竹田茂文, 前村俊一, 須藤和彦, 加瀬義夫, 新井一郎, 大倉靖史, 布野秀二, 藤井祐一, 油田正樹, 細谷英吉: 実験的肝障害および肝薬物代謝酵素系に及ぼす五味子リグナン成分 Gomisin A の作用. *日薬理誌* **87**, 169-187, 1986.
- 5) 竹田茂文, 加瀬義夫, 新井一郎, 長谷川雅之, 関口裕子, 布野秀二, 油田正樹, 細谷英吉: 正常ラットにおける再生肝, 肝組織血流量ならびに肝微細構造に及ぼす TJN-101 の作用. *日薬理誌* **88**, 321-330, 1986.
- 6) Hikono, H., Kiso, Y., Taguchi, H., and Ikeya, Y.: Antihepatotoxic actions of lignoids from *Schizandra chinensis* fruits, *Planta Medica* **50**, 213-217, 1984.
- 7) Mizoguchi, Y., Ohnishi, F., Monna, T., Yamamoto, S., Otani, S. and Morisawa, S.: Studies on intrahepatic cholestasis in drug-induced allergic hepatitis: Intrahepatic cholestasis induced in the rat by the culture supernatant of activated lymphocytes. *Hepatogastroenterology* **28**, 147-150, 1981.
- 8) Mizoguchi Y, Ohnishi F, Monna T, Yamamoto S, Otani S, and Morisawa S: Studies on intrahepatic cholestasis: Intrahepatic cholestasis induced in rats by the culture supernatant of activated lymphocytes, *Hepatogastroenterology* **28**, 292-295, 1981.
- 9) 阪上吉秀, 宮島慶治, 筒井ひろ子, 志波 孝, 東森俊博, 中尾昌弘, 溝口靖紘, 門奈丈之, 山本祐夫, 森沢成司: 催胆汁うっ滞因子の作用機構—胆汁酸依存性および非依存性胆汁排泄と erythritol clearance に対する影響. *日消誌* **79**, 2121-2126, 1982.
- 10) 宮島慶治, 溝口靖紘, 加藤寛子, 筒井ひろ子, 新井孝之, 阪上吉秀, 山本祐夫, 中井賢治, 森沢成司: 催胆汁うっ滞因子の ^{125}I -immunoglobulin A 胆汁排泄への影響. *日消誌* **83**, 1993-1997, 1986.
- 11) 宮島慶治, 溝口靖紘, 加藤寛子, 児玉千枝, 筒井ひろ子, 阪上吉秀, 東森俊博, 山本祐夫, 森沢成司: 催胆汁うっ滞因子の作用機構— ^{125}I -insulin の胆汁中排泄への影響—消化器と免疫 **14**, 202-205, 1985.
- 12) 溝口靖紘, 阪上吉秀, 東森俊博, 大西文明, 中尾昌弘, 門奈丈之, 山本祐夫, 森沢成司: ヒト活性化リンパ球から産生される催胆汁うっ滞因子の部分精製. *日臨免誌* **4**, 305-311, 1981.
- 13) 阪上吉秀, 申 東桓, 溝口靖紘, 宮島慶治, 進藤嘉一, 東森俊博, 関 守一, 黒木哲夫, 針原重義, 小林絢三, 森沢成司, 山本祐夫: 催胆汁うっ滞因子の作用機構—コルヒチン投与ラットに及ぼす影響. *肝臓* **27**, 1265-1271, 1986.
- 14) 木岡清英, 溝口靖紘, 市川裕三, 申 東桓, 阪上吉秀, 小林絢三, 森沢成司, 山本祐夫: 催胆汁うっ滞因子の作用機構—肝細胞内 cAMP 量に及ぼす催胆汁うっ滞因子の影響について—. *日消誌* **86**, 45-49, 1989.
- 15) 阪上吉秀, 溝口靖紘, 武田 弘, 申 東桓, 進藤嘉一, 宮島慶治, 山本祐夫, 門奈丈之, 森沢成司: 催胆汁うっ滞因子の作用機構— ^{14}C -sucrose および ^{32}P -orthophosphate の胆汁排泄に対する影響. *日消誌* **82**, 2904-2911, 1985.