

黄連解毒湯エキスの compound 48/80 惹起胃粘膜障害抑制効果に
及ぼす経口投与時間の影響

尾辻 和彦,^{a)} 小林 隆,^{a)} 太田 好次,^{a)} 篠原 力雄,^{b)} 永田 稔,^{c)} 石黒伊三雄^{a)}

^{a)}藤田保健衛生大学医学部生化学教室, ^{b)}藤田保健衛生大学衛生学部生化学教室, ^{c)}藤田保健衛生大学病院薬剤部

Effect of the timing of oral administration of Oren-gedoku-to
(Huang-Lian-Jie-Du-Tang) extract on its preventive action
on compound 48/80-induced gastric mucosal lesions

Kazuhiko OTSUJI,^{a)} Takashi KOBAYASHI,^{a)} Yoshiji OHTA,^{a)} Rikio SHINOHARA,^{b)}
Minoru NAGATA^{c)} and Isao ISHIGURO^{a)}

^{a)}Department of Biochemistry, School of Medicine, Fujita Health University

^{b)}Department of Biochemistry, School of Health Sciences, Fujita Health University

^{c)}Department of Pharmacy, Fujita Health University Hospital

(Received October 26, 1992, Accepted December 24, 1992.)

Abstract

We examined the effect of the timing of oral administration of Oren-gedoku-to (Huang-Lian-Jie-Du-Tang) (OGT) extract on its preventive action on gastric mucosal lesions in male Wistar rats injected once with compound 48/80, a mast cell degranulator. When gastric mucosal lesions were checked 24 hours after the injection of compound 48/80, the administration of OGT extract 30 min after injection had a significant preventive effect, while the administration of this extract 3 or 6 hours after the injection caused no prevention. In the rats injected with compound 48/80 alone, increases in mucosal xanthine oxidase (XOD) activity and lipid peroxide (LPO) level and decreases in mucosal glutathione peroxidase (GSH-px) and catalase activities occurred 24 hours after injection, while mucosal superoxide dismutase activity did not change. All of these changes were prevented by the administration of OGT extract 30 min after the injection of compound 48/80. The increase of XOD activity and the decrease of catalase activity, however, were ameliorated by the administration of OGT extract 3 or 6 hours after the injection of compound 48/80. The increase of LPO level was suppressed by the administration of this extract 6 hours after the injection of compound 48/80.

These results indicate that orally administered OGT extract can prevent compound 48/80-induced gastric mucosal lesions in rats when its administration is conducted soon after the injection of compound 48/80 (30 min, for this study). These results suggest that in the gastric mucosal tissue, OGT extract exerts this preventive action probably by inhibiting stimulated lipid peroxidation through the protection of GSH-px against inactivation by active oxygen species generated in a xanthine-XOD system.

*〒 470-11 愛知県豊田市荻掛町田楽ヶ窪1-98
1-98 Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake,
Aichi 470-11, Japan

Key words Oren-gedoku-to, compound 48/80, gastric mucosal lesions (rat), lipid peroxidation, antioxidant enzymes, xanthine oxidase.

Abbreviations GSH-px, glutathione peroxidase; LPO, lipid peroxide; MDA, malondialdehyde; SOD, superoxide dismutase; TBA, 2-thiobarbituric acid; XOD, xanthine oxidase; OGT, Oren-gedoku-to (Huang-Lian-Jie-Du-Tang) 黄連解毒湯.

緒 言

著者ら¹⁾は, compound 48/80 (肥満細胞の脱顆粒薬)を1日1回, 4日間連続投与したラットにおいて, 胃粘膜障害と共に, 胃粘膜組織で過酸化脂質(LPO)レベルの上昇, 活性酸素の消去に関与する superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GSH-px) 等の活性低下およびスーパーオキシドアニオン (O_2^-) の生成に関与する xanthine oxidase (XOD) の活性上昇を認め, この胃粘膜障害が活性酸素や LPO による酸化的障害に起因していることを報告している。

黄連解毒湯 (OGT) エキスは抗潰瘍作用を示すことが知られており,^{2,3)} またこのエキスには O_2^- やハイドロキシルラジカル ($\cdot OH$) の活性酸素を消去する作用のあることが認められている。⁴⁾ 著者ら¹⁾は compound 48/80 を4日間連続投与したラットにおいて, その投与後30分に OGT エキスを経口投与すると, 胃粘膜障害と共に, その組織の LPO レベルの上昇, SOD, catalase, GSH-px 等の活性低下および XOD 活性の上昇が抑制されることを認め, OGT エキスがこの胃粘膜障害の抑制に与るのは活性酸素の生成抑制作用や活性酸素消去作用によることを推察している。

そこで, compound 48/80 惹起胃粘膜障害に対する OGT エキスの抑制がどのような機序でおこるのかを明確にする目的で, 著者らは compound 48/80 を1回投与して胃粘膜障害を惹起させたラットに, その投与後30分, 3時間あるいは6時間の時点において OGT エキスを経口投与し, compound 48/80 投与後24時間の時点で胃粘膜障害並びに胃粘膜組織の LPO レベルおよび活性酸素の消去と生成に関与する酵素の活性の変動に対する OGT エキスの抑制効果を調べた。

材料と方法

(1) 実験動物: 日本エスエルシー社 (浜松) より

購入し, オリエンタル酵母社 (東京) 製の固形飼料 MF で1週間飼育した7週齢の Wistar 系雄性ラットを実験に用いた。

(2) 試薬: OGT エキスは, (株) ツムラ (東京) より供与されたエキス原末を用いた。また, compound 48/80 はシグマ社 (St. Louis, MO) 製を, 酵母 glutathione reductase と牛乳 XOD はベーリンガーマンハイム山之内社 (東京) 製を, クメンハイドロパーオキシドは半井化学社 (京都) 製を, また2-チオバルビツール酸 (TBA) およびその他の試薬は和光純薬工業社 (大阪) 製を使用した。

(3) 実験方法: Compound 48/80 投与による胃粘膜障害の作製は, 既報¹⁾に述べたように, 蒸留水に溶解した compound 48/80 (0.75 mg/kg 体重) を1晩絶食させたラットに1回腹腔内投与して惹起させた。Compound 48/80 非投与群 (対照群) には, 同量の蒸留水を腹腔内投与した。また, OGT エキスは蒸留水に懸濁し, ラットに体重1 kg 当たり 500 mg を compound 48/80 投与30分, 3時間および6時間後に経口投与した。その対照群には, compound 48/80 投与後3時間の時点で同量の蒸留水を経口投与した。これらのラットは compound 48/80 投与24時間後の胃を摘出する時点までは絶食させ, 水のみを自由摂取させた。胃の摘出はエーテル麻酔下において行った。なお, compound 48/80 投与による胃粘膜障害の経時的変化をみる際には, ラットはその投与直後, 30分後, 3時間後, 12時間後および24時間後に屠殺した。

胃粘膜障害の程度の判定は次のように行った。即ち, 胃の摘出時に胃内に0.9% NaCl を10 ml 注入し, その後胃は摘出した。その胃は10% ホルマリン液に10分間浸した後, 大弯に沿って開き, 腺胃部の浮腫を調べると共に, その腺胃部で出血斑を伴う粘膜の障害部位の面積 (mm^2) を測定した。胃粘膜障害は浮腫と障害部位の面積から0~VIIのグレードに分類し, このグレード分類を用いて表した。グレード0は浮腫および出血斑が認められない胃粘膜, グレードIは浮腫のみが認められる胃粘膜, グレードIIは障害部位の面積が1~10 mm^2 の胃粘膜, グ

グレードIIIは障害部位の面積が11~20 mm²の胃粘膜, グレードIVは障害部位の面積が21~30 mm²の胃粘膜, グレードVは障害部位の面積が31~40 mm²の胃粘膜, グレードVIは障害部位の面積が41~50 mm²の胃粘膜, またグレードVIIは障害部位の面積が51 mm²以上である胃粘膜とした。

胃粘膜は摘出した胃からハサミで切り離し, LPO, SOD, catalase, GSH-px および XOD の測定に用いた。LPO の測定は, 胃粘膜を冷 20 mM エチレンジアミン四酢酸溶液で 10 % ホモジネートとした後, Ohkawa ら⁵⁾ の TBA 法で行った。その量は, マロンジアルデハイド (MDA) 量として表した。SOD および catalase 活性の測定は, それぞれ Oyanagui⁶⁾ の XOD-NH₂OH 法および Bergmeyer⁷⁾ の方法で行った。また, GSH-px 活性は Hochstein & Utely⁸⁾ と Lawrence & Burk⁹⁾ の方法で行った。これらの測定の試料は, 冷 50 mM トリス-HCl 緩衝液 (pH 7.4) で 10 % ホモジネートとした胃粘膜組織の 10,000×g, 20 分間の遠心上清を同緩衝液に対して 24 時間透析を行って調製した。SOD 活性は牛赤血球 SOD を標準物質として用い, 37°C における胃粘膜試料の O₂⁻ 消去活性に相当する牛赤血球 SOD の量として表した。Catalase の活性は, 37°C において 1 分間に 1 μmol の H₂O₂ を分解する酵素量を 1 unit (U) として表した。また, GSH-px の活性の測定では, 基質として H₂O₂ とクメンヒドロパーオキシドを用い, それぞれ Se タイプ酵素の活性および Se タイプと non-Se タイプの両酵素の総活性を求めた。この酵素活性は 37°C で基質の分解に伴う還元型グルタチオンから酸化型グルタチオンへの変化を glutathione reductase を介する NADPH の酸化によって調べ, 1 分間に 1 μmol の NADP⁺ を生成する酵素量を 1 unit (U) として表した。XOD 活性の測定は Hashimoto¹⁰⁾ の方法で行い, 基質にはキサンチンを用いた。この測定の試料は, 0.25 M シュクロースで 10 % ホモジネートとした胃粘膜組織の 10,000×g, 20 分間の遠心上清を同溶液に対して 24 時間透析を行って調製した。本酵素の活性は, 組織 1 g 当たりにおいて, 30°C, 30 分間に生成される尿酸量として表した。

各群間での胃粘膜障害の有意差の検定は, Mann-Whitney 検定法を用いて行い, 危険率 5 % 以下を有意とした。また, LPO 量および SOD, catalase, GSH-px, XOD 等の活性値は平均±S.D. で表し, これらの各群間での有意差の検定は Student's *t*-test を用いて行い, 危険率 5 % 以下を有意とした。

結 果

1. Compound 48/80 投与ラットの胃粘膜障害の経時的变化

1 回の compound 48/80 投与による胃粘膜障害をその投与後 30 分, 3 時間, 6 時間, 12 時間および 24 時間において調べ, グレード分類によって表すと, Fig. 1 に示す結果が得られた。Compound 48/80 投与後 30 分で胃粘膜障害が観察され, その投与後 3 時間において胃粘膜は最も障害されていたが, その後この障害の回復がみられた。しかし, compound 48/80 投与後 24 時間の時点では胃粘膜障害の悪化が再び認められた。

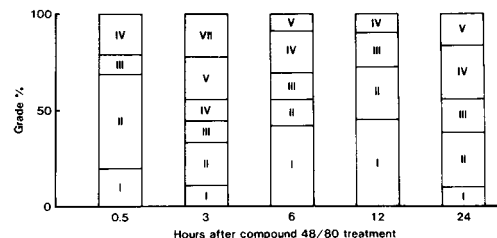


Fig. 1 Time course of gastric mucosal lesions in rats injected with compound 48/80. The severity of gastric mucosal lesions was estimated according to the grade classification described in Materials and Methods. The number of rats used was 9-13.

2. Compound 48/80 投与ラットの胃粘膜障害に対する OGT エキス経口投与時間の影響

Compound 48/80 投与後 30 分, 3 時間および 6 時間において OGT エキスを経口投与したラットの compound 48/80 投与後 24 時間における胃粘膜障害をグレード分類によって表すと, Fig. 2 に示す結果が得られた。Compound 48/80 単独投与群では, グレード I, II, III, IV および V の占める割合はそれぞれ 10, 29, 17, 28 および 16 % であった。OGT エキス (30 分) 併用投与群では, グレード I, II および III の占める割合はそれぞれ 27, 47 および 26 % であり, 胃粘膜障害は有意に抑制されていた。しかし, OGT エキス (3 時間) 併用投与群では, グレード I, II, III, IV および V の占める割合は compound 48/80 単独投与群と類似しており, 胃粘膜障害の抑制は認められなかった。また, OGT エキス (6 時間) 併用投与群では, グレード I, II, III, IV およ

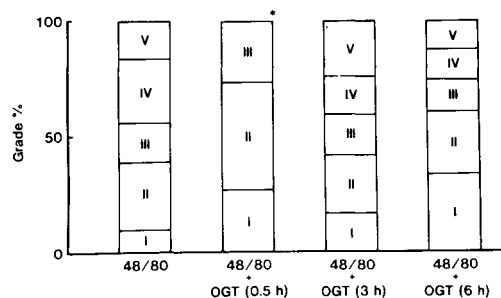


Fig. 2 Effect of post-oral administration of OGT extract on gastric mucosal lesions in compound 48/80-injected rats as a function of administration time of OGT extract. The severity of gastric mucosal lesions was determined 24 hours after the injection of compound 48/80. Hours in parentheses represent the time of oral administration of OGT extract after the injection of compound 48/80. The number of rats used was 12-18. Vs compound 48/80: *, $p < 0.01$.

び V の占める割合はそれぞれ 33, 27, 15, 13 および 12 % で、グレード III, IV および V の占める割合は compound 48/80 単独投与群に比べて少なかったが、有意な胃粘膜障害の抑制はみられなかった。

3. Compound 48/80 投与ラットの胃粘膜組織の LPO レベルに及ぼす OGT エキス経口投与時間の影響

Compound 48/80 投与 24 時間後では、その単独投与群の胃粘膜組織の LPO 量は有意に増加し、その量は対照群の 1.43 倍であったが、この増加は compound 48/80 投与 30 分後あるいは 6 時間後における OGT エキス経口投与により有意に抑制され、そ

の量はそれぞれ対照群の 1.18 および 1.24 倍であった (Fig. 3)。しかし、OGT エキス (3 時間) 併用投与群では、胃粘膜組織の LPO 量は compound 48/80 単独投与群とほぼ同等であり、抑制効果はみられなかった (Fig. 3)。

4. Compound 48/80 投与ラットの胃粘膜組織の SOD, catalase および GSH-px 活性に及ぼす OGT エキス経口投与時間の影響

Compound 48/80 投与 24 時間後のラットの胃粘膜組織の SOD 活性は対照群とほぼ同等であり、またその投与後 30 分、3 時間および 6 時間の時点で OGT エキスを経口投与しても SOD 活性は変動しなかった (Table I)。胃粘膜組織の catalase 活性は compound 48/80 投与により対照群の 56 % のレベルに低下したが、この活性低下はその投与後 30 分、3 時間あるいは 6 時間での OGT のエキス経口投与

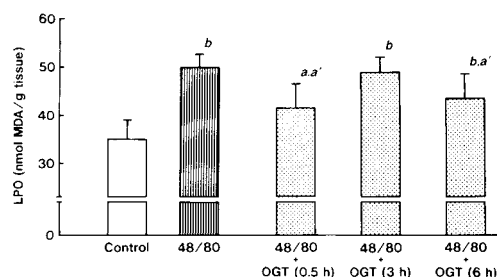


Fig. 3 Effect of post-oral administration of OGT extract on gastric mucosal LPO level in compound 48/80-injected rats as a function of administration time of OGT extract. Gastric mucosal LPO was measured 24 hours after the injection of compound 48/80. Each value is a mean $\pm$ S.D. (n=10-13). Vs control: a, $p < 0.01$; b, $p < 0.001$. Vs compound 48/80: a', $p < 0.001$.

Table I Effect of post-oral administration of OGT extract on rat gastric mucosal SOD, catalase, and GSH-px activities measured 24 hours after the injection of compound 48/80 as a function of post-administration time of OGT extract.

Groups	SOD ($\mu\text{g/g}$ tissue)	Catalase (U/g tissue)	GSH-px (Se-type) (U/g tissue)	GSH-px (Total) (U/g tissue)
Control	17.9 $\pm$ 0.9	7.95 $\pm$ 0.98	345.4 $\pm$ 14.1	387.7 $\pm$ 26.6
Compound 48/80	17.5 $\pm$ 1.7	4.49 $\pm$ 0.41 ^d	279.4 $\pm$ 26.8 ^d	323.0 $\pm$ 45.8 ^c
Compound 48/80 + OGT (0.5 h)	17.3 $\pm$ 1.5	7.63 $\pm$ 1.19 ^{b'}	328.0 $\pm$ 9.1 ^{c,b'}	375.6 $\pm$ 34.0 ^{a'}
Compound 48/80 + OGT (3 h)	17.0 $\pm$ 2.0	7.00 $\pm$ 0.79 ^{b'}	258.3 $\pm$ 16.4 ^d	317.3 $\pm$ 23.9 ^b
Compound 48/80 + OGT (6 h)	17.9 $\pm$ 2.2	6.99 $\pm$ 0.51 ^{a,b'}	287.3 $\pm$ 18.2 ^d	339.9 $\pm$ 24.7 ^c

Hours in parentheses represent the time of oral administration of OGT extract after the injection of compound 48/80.

Each value is a mean $\pm$ S.D. (n=5-13).

Vs control: a, $p < 0.05$; b, $p < 0.02$; c, $p < 0.01$; d, $p < 0.001$.

Vs compound 48/80: a', $p < 0.02$; b' $p < 0.001$.

によって有意に抑制され、しかもこの抑制効果は OGT エキス (30 分) 併用投与群で最も強く、この投与群の本酵素活性は対照群とほぼ同じレベルであった (Table I)。H₂O₂ を基質に用いて測定した胃粘膜組織の Se タイプの GSH-px の活性は compound 48/80 投与で対照群の 81 % に低下したが、この活性低下はその投与後 30 分における OGT エキス経口投与で有意に抑制され、この OGT エキス併用投与群の本酵素活性は対照群の 95 % であった (Table I)。クメンハイドロパーオキシドを基質に用いて測定した胃粘膜組織の Se タイプと non-Se タイプの GSH-px の総活性は compound 48/80 投与で抑制され、対照群の 83 % であったが、この活性低下の抑制は OGT エキス (30 分) 併用投与群においてみられ、この投与群の本酵素活性は対照群の 97 % であった (Table I)。このように、compound 48/80 および OGT エキス併用経口投与による胃粘膜組織の GSH-px 活性の変動は、H₂O₂ を基質に用いた場合とクメンハイドロパーオキシドを基質に用いた場合とよく類似していた。

5. Compound 48/80 投与ラットの胃粘膜組織の XOD 活性に及ぼす OGT エキス経口投与時間の影響

Compound 48/80 投与 24 時間後では、その単独投与群の胃粘膜組織の XOD 活性は対照群の 2.7 倍であったが、この活性上昇はその投与後 30 分、3 時間あるいは 6 時間での OGT エキスの経口投与により有意に抑制され、これらの OGT エキス併用投与群の本酵素活性はそれぞれ対照群の 1.3, 1.3 および 1.7 倍であった (Fig. 4)。

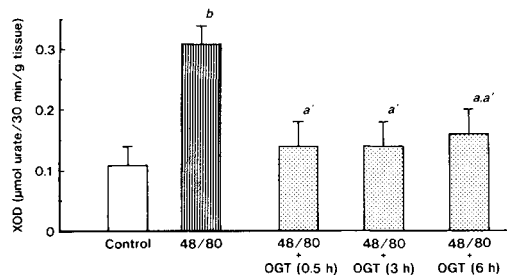


Fig. 4 Effect of post-oral administration of OGT extract on gastric mucosal XOD activity in compound 48/80-injected rats as a function of administration time of OGT extract. Gastric mucosal XOD was assayed 24 hours after the injection of compound 48/80. Each value is a mean $\pm$ S.D. (n=8-9). Vs control: a, $p < 0.02$; b, $p < 0.001$. Vs compound 48/80: a', $p < 0.001$.

考 察

著者らは、既報¹⁾において、compound 48/80 を 1 日 1 回、4 日間連続投与して惹起させたラットの胃粘膜障害がその投与後 30 分における OGT エキスの併用経口投与で抑制されることを認めている。また、この報告において、OGT エキスの胃粘膜障害抑制作用は、このエキスによって胃粘膜組織のキサンチン-XOD 系における O₂⁻生成の亢進が抑制され、その組織の LPO レベルの上昇と SOD, catalase, GSH-px 等の活性酸素の消去に参与する酵素の活性低下が抑えられることによると推察されている。そこで、著者らは、更に OGT エキスの compound 48/80 惹起胃粘膜障害に対する抑制機序を明らかにすることを試みた。即ち、今回、著者らは compound 48/80 をラットに 1 回投与して胃粘膜障害を惹起させ、既報¹⁾において投与効果がみられた量の OGT エキス (500 mg/kg) を compound 48/80 投与後 30 分、3 時間あるいは 6 時間の時点で経口投与し、compound 48/80 投与 24 時間後において調べた。本実験における compound 48/80 投与後 30 分、3 時間および 6 時間での OGT エキスの経口投与は、同量の compound 48/80 を投与したラットの肥満細胞から遊出したセロトニンの血中レベルがその投与後 30 分で最も高くなることが報告されている¹¹⁾ので、compound 48/80 投与による肥満細胞からのセロトニンの遊出に影響を与えていないと考えられる。

Compound 48/80 をラットに 1 回投与し、その投与直後から 24 時間後までの腺胃部の障害を経時的に観察すると、障害は投与後 30 分の時点で認められ、投与後 3 時間付近で最も悪化し、その後回復したか、投与後 24 時間で再び悪化した。この胃粘膜障害は compound 48/80 投与後 30 分の時点で OGT エキスを経口投与すると明らかに抑制されたが、compound 48/80 投与後 3 時間および 6 時間の時点では同量の OGT エキスを経口投与しても抑制効果が認められなかった。このように、OGT エキスの compound 48/80 惹起胃粘膜障害に対する抑制効果はこのエキスの経口投与の時期によって異なり、また OGT エキスはこの胃粘膜障害の発症早期に投与された場合に強い胃粘膜障害抑制作用を示すことが明らかとなった。

そこで、著者らはこの compound 48/80 惹起胃粘膜障害に対する OGT エキス経口投与による抑制効果がその投与時期によって異なる原因とその胃粘膜

障害抑制作用について、胃粘膜組織の LPO レベルおよび上述した活性酸素の生成と消去に関与する酵素の活性変動から調べた。その結果、compound 48/80 投与 24 時間後の胃粘膜組織では、既報¹⁾のように、LPO レベルの上昇と H_2O_2 の消去に関与する catalase および GSH-px の活性低下がみられたのに対し、 O_2^- の消去に関与する SOD の活性の変動は認められなかった。この GSH-px 活性の低下に関しては、 H_2O_2 と脂質ヒドロパーオキシドの消去に関与する Se タイプの GSH-px^{9,12)} の活性と脂質ヒドロパーオキシドの消去にのみ関与する non-Se タイプの GSH-px^{9,12)} の総活性の低下とよく類似していた。このことから、compound 48/80 の投与で活性低下を示す GSH-px は、主に Se タイプであることが明らかとなった。また、胃粘膜組織の O_2^- と H_2O_2 の生成に関与する XOD は compound 48/80 投与 24 時間後では活性上昇を示した。この XOD 活性の上昇は、compound 48/80 投与数分より数時間にわたり持続的に胃粘膜血流量が低下し、虚血状態を呈することが知られており、¹³⁾ また虚血状態になると組織の xanthine dehydrogenase は XOD に変換されることが報告されている¹⁴⁾ ので、これらのことに基づいていると思われる。最近、*in vitro* において、catalase は O_2^- や $\cdot\text{OH}$ によって、また Se タイプの GSH-px は H_2O_2 や $\cdot\text{OH}$ によって失活することが報告されており、¹⁵⁾ また、 $\cdot\text{OH}$ は二価金属の Fe^{2+} などと H_2O_2 との反応 (Fenton 反応)、遷移金属の Fe などの共在下での O_2^- と H_2O_2 との反応 (Haber-Weiss 反応) などによって生じるので、compound 48/80 投与による胃粘膜組織の両酵素の活性低下はこの薬剤投与による XOD 活性の上昇によって O_2^- と H_2O_2 の生成が亢進したことによると考えられる。従って、これらのことから、1 回の compound 48/80 投与による胃粘膜障害の発症・進展にも、この薬剤の頻回投与でみられた胃粘膜障害¹⁾ の場合と同様に、キサンチン-XOD 系による O_2^- と H_2O_2 の生成亢進が関与していると考えられる。

一方、compound 48/80 投与 30 分後に OGT エキスを経口投与した群の胃粘膜組織では、LPO レベルと XOD 活性の上昇ばかりでなく、catalase と GSH-px 活性の低下も抑制されていた。Compound 48/80 投与 3 時間後に OGT エキスを経口投与した群の胃粘膜組織では、LPO レベルの上昇と GSH-px 活性の低下は抑制されなかった。また、compound 48/80 投与 6 時間後に OGT エキスを経口投与した群の胃粘膜組織では、GSH-px 活性の低下は抑制されなかった。しかも、compound 48/80 投与

による胃粘膜組織の XOD 活性の上昇と catalase 活性の低下は、この薬剤投与後 30 分、3 時間および 6 時間の時点での OGT エキス投与によってほぼ同程度に抑制されていた。この XOD 活性の上昇に対する OGT エキスの抑制効果に関しては、*in vitro* においてこのエキ스는ラット胃粘膜組織の XOD 活性を直接阻害する¹⁾ ので、この阻害作用によると考えられる。また、この catalase 活性の低下に対する OGT エキスの抑制効果は、このエキス投与で XOD 活性の上昇が抑制され、その結果、本酵素が前述した O_2^- や $\cdot\text{OH}$ によって不活性化¹⁵⁾ されないことに基づいていると思われる。しかも、このことから、compound 48/80 投与による胃粘膜組織の catalase 活性の低下はその投与後の遅い時点、少なくともその投与 6 時間以降において起こっていると推察される。これらのことから、compound 48/80 投与 30 分後における OGT エキス経口投与によって胃粘膜障害が抑制されたのは、この時点で OGT エキスを経口投与した群の胃粘膜組織では、このエキスが compound 48/80 投与による XOD 活性の上昇を早期から抑制し、また O_2^- や $\cdot\text{OH}$ を消去する作用¹⁾ を示し、その結果、 O_2^- や H_2O_2 の生成が亢進せず、catalase や Se タイプの GSH-px の活性が維持され、脂質過酸化の亢進が抑制されていることに基づいていると推察される。Compound 48/80 投与 3 時間後での OGT エキス経口投与によって胃粘膜障害が抑制されなかったのは、前述のように、Se タイプの GSH-px が compound 48/80 投与後 3 時間までの時点において XOD 活性の上昇に伴う O_2^- と H_2O_2 の生成の亢進によって失活し、しかもこの失活がその後において XOD 活性が阻害されても回復せず、この酵素の LPO 消去機能が低下したままであったことに基づいていると推察される。また、compound 48/80 投与 6 時間後における OGT エキスの経口投与によって胃粘膜障害が抑制されなかったのは、この時点での OGT エキスの経口投与では、compound 48/80 投与 3 時間後における OGT エキスの経口投与の場合と同様に、胃粘膜組織の GSH-px の失活が回復しなかったことによると推察される。

以上のことより、1 回の compound 48/80 投与で惹起されたラットの胃粘膜障害には、胃粘膜組織の XOD を介して生成される O_2^- 、 H_2O_2 などの活性酸素やこれらの生成された活性酸素に基づく脂質過酸化の亢進が密接に関与していると考えられる。Compound 48/80 投与による胃粘膜障害がその投与後 30 分の時点での OGT エキス経口投与によって抑

制されたのは, compound 48/80 投与後早期より胃粘膜組織の XOD 活性の上昇が抑制され, その結果, O_2^- や H_2O_2 の生成亢進, catalase と GSH-px の活性低下および LPO レベルの上昇が抑制されたことによると推察された。また, compound 48/80 投与後 3 時間あるいは 6 時間における OGT エキスの経口投与によって胃粘膜障害が抑制されないのは, GSH-px が compound 48/80 投与後 3 時間あるいは 6 時間までの時点において XOD 活性の上昇に伴う O_2^- や H_2O_2 生成によって失活し, しかもこの失活がその後 XOD 活性の上昇が抑制されても回復しないことに基づいていると思われる。

今後, 著者らは compound 48/80 投与直後および 30 分後の時点での OGT エキス経口投与による胃粘膜障害の抑制効果, その組織の LPO レベルおよび活性酸素の消去や生成に関与する酵素の活性変動等に対する影響を経時的に調べ, 更に OGT エキスの compound 48/80 惹起胃粘膜障害抑制作用を明らかにする予定である。

結 論

ラットに compound 48/80 を 1 回投与して惹起させた胃粘膜障害には, 胃粘膜組織の XOD を介して生成される O_2^- , H_2O_2 などの活性酸素やこれらの生成された活性酸素に基づく脂質過酸化の亢進の関与が示唆された。また, この胃粘膜障害は compound 48/80 投与後 30 分における OGT エキス経口投与によって抑制されたが, 3 時間あるいは 6 時間におけるこのエキスの投与では抑制されず, OGT エキスの compound 48/80 惹起胃粘膜障害に対する抑制効果はその投与時間によって異なることが明らかとなった。Compound 48/80 投与後 30 分における OGT エキス経口投与によって胃粘膜障害が抑制されたのは, compound 48/80 投与後早期より胃粘膜組織の XOD 活性の上昇が抑制され, その結果, O_2^- や H_2O_2 の生成亢進, catalase と GSH-px の活性低下および LPO レベルの上昇が抑制されたことによると推察された。また, compound 48/80 投与後 3 時間あるいは 6 時間における OGT エキスの経口投与によって胃粘膜障害が抑制されないのは, GSH-px が compound 48/80 投与後 3 時間あるいは 6 時間までの時点において XOD 活性の上昇に伴う O_2^- や H_2O_2 生成によって失活し, しかもこの失活がその後 XOD 活性の上昇が抑制されても回復しないこ

とによると思われた。

文 献

- 1) 尾辻和彦, 太田好次, 篠原力雄, 石黒伊三雄: Compound 48/80 投与ラットの胃粘膜障害に対する黄連解毒湯エキス経口投与の影響. 和漢医薬学会誌 **9**, 101-109, 1992.
- 2) 水野修一: 消化性潰瘍からの出血に対する黄連解毒湯での治療例. 漢方医学 **5** (11), 13-16, 1981.
- 3) 水野修一: 消化性潰瘍からの出血に対する黄連解毒湯での治療効果. 日消病会誌 **79**, 1043, 1982.
- 4) 吉川敏一, 高橋周史, 内藤祐二, 谷川 徹, 上田茂信, 小山田裕一, 杉野 成, 近藤元治: 漢方薬の活性酸素産生系に及ぼす影響. 電子スピン共鳴によるスピントラッピング法を用いての検討. 医学のあゆみ **152**, 741-742, 1990.
- 5) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.: Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358, 1979.
- 6) Ôyanagui, Y.: Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.* **142**, 290-296, 1984.
- 7) Bergmeyer, H.U.: Zur Messung von Katalase-Activitäten. *Biochem. Z.* **327**, 255-258, 1955.
- 8) Hochstein, P. and Utley, H.: Hydrogen detoxication by glutathione peroxidase and catalase in rat liver homogenates. *Mol. Pharmacol.* **4**, 574-579, 1968.
- 9) Lawrence, R.A. and Burk, R.F.: Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**, 952-958, 1976.
- 10) Hashimoto, S.: A new spectrophotometric assay method of xanthine oxidase in crude tissue homogenate. *Anal. Biochem.* **62**, 426-435, 1974.
- 11) Takeuchi, K., Ohtsuki, H. and Okabe, S.: Pathogenesis of compound 48/80 induced gastric lesions in rats. *Dig. Dis. Sci.* **31**, 392-400, 1986.
- 12) Lawrence, R.A. and Burk, R.F.: Species, tissues and subcellular distribution of non Se dependent glutathione peroxidase activity. *J. Nutr.* **108**, 211-215, 1978.
- 13) Takemura, T.: Role of oxygen radicals derived from polymorphonuclear leukocytes in gastric mucosal injury in rats. *J. Kyoto Pref. Univ. Med.* **99**, 117-131, 1990.
- 14) Engerson, T.D., McKelvey, T.G., Rhyne, D.B., Boggio, E.B., Snyder, S.J. and Jones, H.P.: Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat tissues. *J. Clin. Invest.* **79**, 1564-1570, 1987.
- 15) Pigeolet, E., Corbister, P., Houbion, A., Lambert, D., Michiles, C., Rase, M., Zachary, M.D. and Remacle, J.: Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. *Mech. Ageing Dev.* **51**, 283-297, 1990.