

婦人保健薬、中将湯の実験的骨粗鬆症ラットに対する効果

日高 三郎,^{a)}岡本 佳三,^{b)}阿部 公生,^{a)}宮崎 光治,^{b)}中島 薫,^{c)}末川 守,^{c)}劉 勝彦^{c)}

^{a)}福岡歯科大学口腔生化学, ^{b)}同歯科理工学, ^{c)}株式会社ツムラ

Beneficial effect of a drug for women's health, Chujo-to on experimentally-induced osteoporosis in rats

Saburo HIDAKA,^{*a)} Yoshizo OKAMOTO,^{b)} Kimio ABE,^{a)} Koji MIYAZAKI,^{b)}
Kaoru NAKAJIMA,^{c)} Mamoru SUEKAWA,^{c)} and Sheng Yan LIU^{c)}

^{a)}Departments of Oral Biochemistry, ^{b)}Dental Materials, Fukuoka Dental College, ^{c)}Tsumura & Co.

(Received January 5, 1995. Accepted February 20, 1995.)

Abstract

The present study was undertaken to test whether an over the counter drug, Chujo-to could prevent the progress of bone loss induced by ovariectomy in rats. Chujo-to infusions were administered immediately and continued for 50 days after ovariectomy. For confirmation, tibiae from sham-operated (Sham) and ovariectomized (OVX) rats were investigated by contact microradiography; the number of cancellous bone in the epiphysis and that of trabecular bone in the metaphysis of OVX was decreased. Then, tibiae, mandibulae and calvariae from Sham, OVX and OVX given Chujo-to (OVX+Chujo-to) were investigated by electron microscopy and electron-probe microanalysis. Femora from them were also investigated on their mechanical properties. From the microscopic observations, the number of trabecular bone in the metaphysis was comparable between Sham and OVX+Chujo-to, while that of OVX showed a decrease. Furthermore, at an enlarged magnification, the surface in trabecular bones from Sham and OVX+Chujo-to was comprised of a fine particle, but that in trabecular bones from OVX had an erosive appearance. From these histomorphological evidences, it is suggested that Chujo-to may prevent bone loss induced by ovariectomy in rats. Chujo-to has been used for curing gynecological diseases for 100 years in Japan, but there is no scientific evidence for its effectiveness. Therefore, this result may offer a clue for evaluating its effectiveness and also present a scientific basis for new application of Chujo-to to postmenopausal osteoporosis.

Key words Chujo-to, experimental osteoporosis, tibiae, femora, rat, scanning electron micrographs, mechanical properties.

緒 言

女性は男性に比べ最大骨量が少なく、かつ閉経後の骨量の減少が大であるので骨粗鬆症になりやすい。このことは、女性にみられる閉経後骨粗鬆症として知られている。¹⁾ 閉経後骨粗鬆症の原因は大部分がエストロゲン欠乏による骨量減少によるものである。この病態の研究に用

いられる卵巣摘出モデルは人工的閉経により、エストロゲン欠乏状態を作製し、それによる骨減少を期待するモデルである。²⁾ この病気のモデルとして卵巣摘出ラットがよく用いられているが、各研究者が週齢の異なるラットを用いた報告を出しているため、モデルの一般化が必要とされていた。その為、Kalu²⁾ が12カ月のラットを用いる老齢ラットモデル (Aged rat model; このモデルは経費と時間がかかる) と、より簡便な3カ月ラットを用

*〒814-01 福岡市早良区田村2丁目15番1号
2-15-1, Tamura, Sawara ku, Fukuoka 814-01, Japan

いる成熟ラットモデル (Mature rat model) を提唱している。

一方、骨粗鬆症の治療薬としては、動物モデルを用いてこれまでに種々報告されてきた。³⁻⁷⁾ これらのうち、エストロゲン、⁸⁾ HEBP⁹⁾ さらに、カルシトニン、¹⁰⁾ カルシウム製剤、¹¹⁾ イブリフラボン、¹²⁾ PTH¹³⁾ などは治療薬として臨床的に使用されている。

近年、西洋薬に比べ副作用の発生頻度が低く、しかも長期間の服用に適している漢方薬が臨床医に見直されてきている。また、中将湯は大衆薬 (Over The Counter Drug) として薬局で市販されている安全性の高い婦人用健康保健薬 (生薬製剤) である。この中将湯は、冷え症をはじめとする女性の病気に欠くことのできない生薬である当帰、川芎、桃仁、牡丹皮、芍薬、動悸やむくみに効果のある蒼朮、茯苓、滋養強壯作用のある人參、頭痛やのぼせに効果のある桂皮、健胃作用のある黄連、丁子、生姜、橙皮、月経不順や神経症に用いる香附子、さらに補血強壯作用のある地黄、諸薬の薬効を緩和する作用のある甘草を配合した婦人薬である。¹⁴⁾ しかしながら、これまで百年の長期にわたりわが国で大衆薬として愛用されてきたにもかかわらず、その有効性は科学実験的に確かめられていなかった。大衆薬は、軽い病気の時は、自らが責任を持って自分の健康に正しく対処するセルフメディケーションの薬として大切な役割を果たすものであ

る。¹⁵⁾

今回、我々は、中将湯の現代的手法による薬効評価の手始めとして、先述の成熟ラットモデルを用いて、骨粗鬆症ラットを作製し、中将湯の投与実験を行なった。その結果、中将湯の骨粗鬆症治療に対する有効性が確かめられたので報告する。

材料と方法

(1) 試薬及び薬物：ツムラ婦人薬中将湯 (株) ツムラ、東京) を用いた。中将湯は 16 種類の生薬から構成され、その名称と含量とを Table I に示す。その他実験に用いた試薬は、片山化学工業 (大阪) より購入した。

(2) 中将湯浸出液の調製：中将湯 (平均乾燥重量 12.5 g/1 袋) の 1 袋を 100°C で 5 分間、360 ml の熱湯に浸した後、袋を取り除き浸出液を冷し、中将湯浸出液とした。中将湯浸出液は -20°C で貯蔵した。

(3) 卵巣摘出と中将湯浸出液投与：9 週齢の SD ラットの雌、24 匹を成和実験動物研究所 (福岡) より購入した。27 日間飼育後 (3 カ月令)、ネンブタール (ペントバルビタールナトリウム, Abbott Lab., U.S.A.) 麻酔下で手術した。8 匹は見かけ上の手術をした対照群 (Sham 群)、8 匹は卵巣摘出群 (OVX 群)、8 匹は卵巣摘出して 24.8 倍に希釈した中将湯浸出液を飲み水として与えた群 (OVX

Table I Components and contents in daily dose of one package (12.5 g) Chujo to.

Component	(g)	Component	(g)
Shakuyaku (芍薬) (JP*, <i>Paeoniae Radix</i>)	2.0	Kobushi (香附子) (JP, <i>Cyperi Rhizoma</i>)	0.5
Toki (当帰) (JP, <i>Angelicae Radix</i>)	2.0	Jio (地黄) (JP, <i>Rehmanniae Radix</i>)	0.5
Keihi (桂皮) (JP, <i>Cinnamomi Cortex</i>)	1.5	Kanzo (甘草) (JP, <i>Glycyrrhizae Radix</i>)	0.4
Senkyu (川芎) (JP, <i>Cnidii Rhizoma</i>)	1.0	Tonin (桃仁) (JP, <i>Persicae semen</i>)	0.4
Sojutsu (蒼朮) (JP, <i>Atractylodis Lanceae Rhizoma</i>)	1.0	Oren (黄連) (JP, <i>Coptidis Rhizoma</i>)	0.2
Bukuryo (茯苓) (JP, <i>Hoelen</i>)	1.0	Shokyo (生姜) (JP, <i>Zingiberis Rhizoma</i>)	0.1
Botanpi (牡丹皮) (JP, <i>Moutan Cortex</i>)	1.0	Choji (丁子) (JP, <i>Caryophylli Flos</i>)	0.1
Tohi (橙皮) (JP, <i>Aurantii Pericarpium</i>)	0.7	Ninjin (人參) (JP, <i>Ginseng Radix</i>)	0.1

*Abbreviation of Japanese Pharmacopeia.

+中将湯)に分けた(ラットの一日摂取量は約 25 ml であり, ヒト体重 (60 kg) とラット体重 (250 g) から中将湯摂取量が等しくなるように希釈した。)骨粗鬆症を生じさせる為, 手術実施後 50 日間, 12-12 時間の昼夜サイクルの照明, 一定の温度 ($24 \pm 0.5^\circ\text{C}$) と湿度 (45-50 %) 下で飼育した。飼料 (MF ペレット, (株) オリエンタルイースト, 東京) と飲み水 (蒸留水) は自由に摂取させた。

飲料水の消費量と体重増加は実験期間中, 適時に測定した。50 日目にクロロホルム蒸気中で屠殺した後, 両脚 (脛骨と大腿骨), 下顎骨と頭蓋骨 (頭頂骨) を採取した。右脚の脛骨のみ 7.5 % の中性緩衝ホルマリン溶液 (pH 7.2) で固定した。

(4) 脛骨近位部の放射線写真と電子顕微鏡観察: 右脚の脛骨を一連のエタノール溶液に浸すことにより脱水処理し, メタクリレート樹脂 (テクノビット, 7200 VLC, Kulzer 社, ドイツ) に包埋した。トリマーを用いてトリミングした後, 脛骨近位部をダイヤモンドカッターで切断し片方をミクロトーム (Leitz-1600) を用いて切片 ($100\ \mu\text{m}$) とし, さらに, 砥石と砥石の間に挟んで, $60-80\ \mu\text{m}$ の厚さにまで研磨した。コンタクトマイクロラディオグラフ (CMR) は軟 X 線装置 (モデル CMS; Softex Co., 東京) で 3 mA, 80 V の条件で行なった。¹⁶⁾ また, 電子顕微鏡観察用には, 一方の切断片の縦断面を砥石 (#6,000) で流水下において研磨した。標本にカーボン蒸着を施した後, 元素分析併用の走査型電子顕微鏡 (SEM) (ERA-8000 FE, エリオニックス, 東京) を用いて, 20 kV, 20 mA の条件下で観察を行なった。元素分析のため, 一群 8 匹のうち 5 匹を用いて脛骨近位部の表面 3 箇所 (Fig. 3A 参照) を $180 \times 230\ \mu\text{m}$ の範囲で, 一箇所につき, ランダムに 3-5 回測定した。なお, 元素分析の定量は ZAF 法によった。¹⁷⁾ また, 下顎骨関節突起部 (外側面) と頭頂骨 (内側面) も同様にカーボン蒸着処理をして表面の SEM 観察を行なった。

(5) 大腿骨の強度試験: 左の大腿骨を用いて 3 点曲げ試験を行なった。大腿骨の遠位部を骨端線のところで切り離し, 近位部はダイヤモンドカッターで切断し適切な長さとして, 前面を上に向けてサンプル支持台の上に置いた。測定にはオートグラフ (IS-5000; 島津社製) を使用し支点間距離は 15 mm, クロスヘッドスピードは 0.5 mm/min の条件下で行なった。荷重-変位曲線から最大強度と破断点までの距離を求めた。

(6) 統計: 本実験のデータは 3-5 回の実験から得られたものであり, 平均値 $\pm$ S.D. で表した。統計的検定は ANOVA と Scheffé's Test を用いて行なった。

結 果

1. 体重, 飲料水と食餌の消費

OVX 群と OVX+中将湯群ラットの体重は Sham 群ラットに比較して有意に増加していた (Fig. 1)。50 日目の Sham 群ラットの体重は, $267 \pm 27\ \text{g}$ 。一方 OVX 群のラットの体重は $348 \pm 25\ \text{g}$ であった。この体重増加は OVX+中将湯群では術後一週間だけ有意に押えられていた (OVX+中将湯群の 50 日目の体重は $345 \pm 21\ \text{g}$)。各群間の摂水量に有意差は見られなかった。全群のラットで一日あたり, 飲料水は $25 \pm 1.5\ \text{ml}$ /ラットであった。しかし, 摂食量では体重増加と比例して Sham 群で $15.9 \pm 1.1\ \text{g}$, OVX 群で $19.3 \pm 2.0\ \text{g}$, OVX+中将湯群で $19.6 \pm 1.8\ \text{g}$ /ラットであった。Sham 群に比べ, OVX 群, OVX+中将湯群ではそれぞれ有意差があった ($p < 0.05$)。

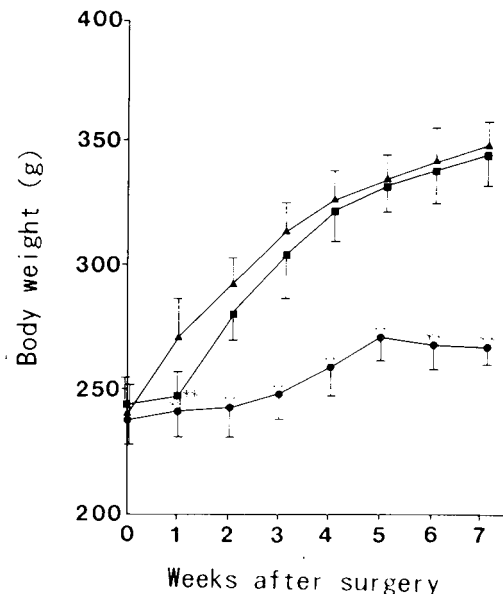


Fig. 1 Changes in body weight in rats. Rats were sham-operated (●), ovariectomized (▲) and given Chujo-to after ovariectomy (■). Each point represents the mean value $\pm$ S.D. (n=8). ** $p < 0.01$, significant difference from the ovariectomized group at corresponding times.

2. 脛骨近位部の CMR と SEM 像による解析

卵巣摘出して 50 日目の脛骨近位部のコンタクトマイクロラディオグラフ (CMR) を Fig. 2 に示した。明かに Sham 群に比べ OVX 群では海綿骨の骨梁数に減少が見られた。このように, 明かに OVX 群では骨粗鬆症を生じ

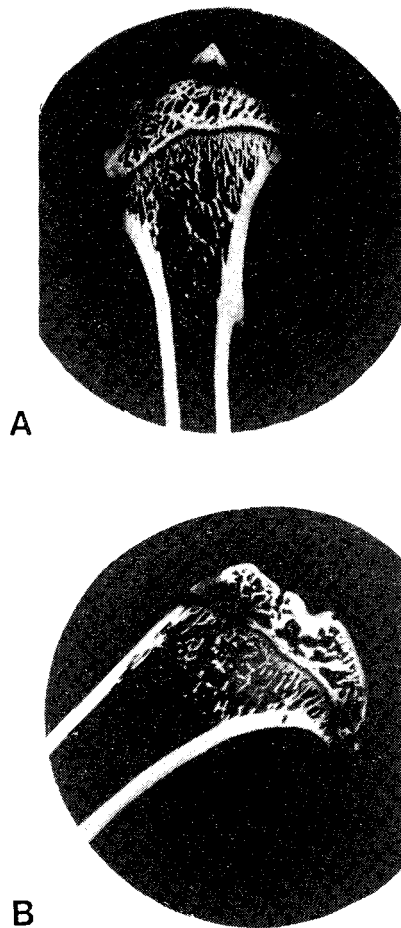


Fig. 2 Contact microradiographs of the proximal tibia 50 days after sham-operated (A) and ovariectomized (B).

ていた。Sham 群, OVX 群, OVX+中将湯群の各群ラット脛骨近位部縦断面の SEM 像写真を Fig. 3 に示した。海綿骨骨梁の数は Sham 群に比べ明かに OVX 群では少なくなっていた。しかしその数は中将湯を投与することで OVX 群に比べ増加していた。海綿骨の幅に関しては、一部 OVX 群で、細くなっているのが観察された（その幅は $75 \pm 5.0 - 100 \pm 9 \mu\text{m}$ であり、他の海綿骨幅と比べ $1/2 - 1/3$ であった：Fig. 3B の V 字印）。さらに、海綿骨を拡大すると、Sham 群の脛骨近位部標本の表面できめ細かい粒子状態 (Fig. 4A) が見られたのに対し、OVX 群では粗となり溶けて融合した状態が見られた (Fig. 4B)。しかし、OVX+中将湯群では Sham 群と比較しうる状態であった (Fig. 4C)。

この変化した海綿骨表面構造の出現頻度は 8 匹のラッ

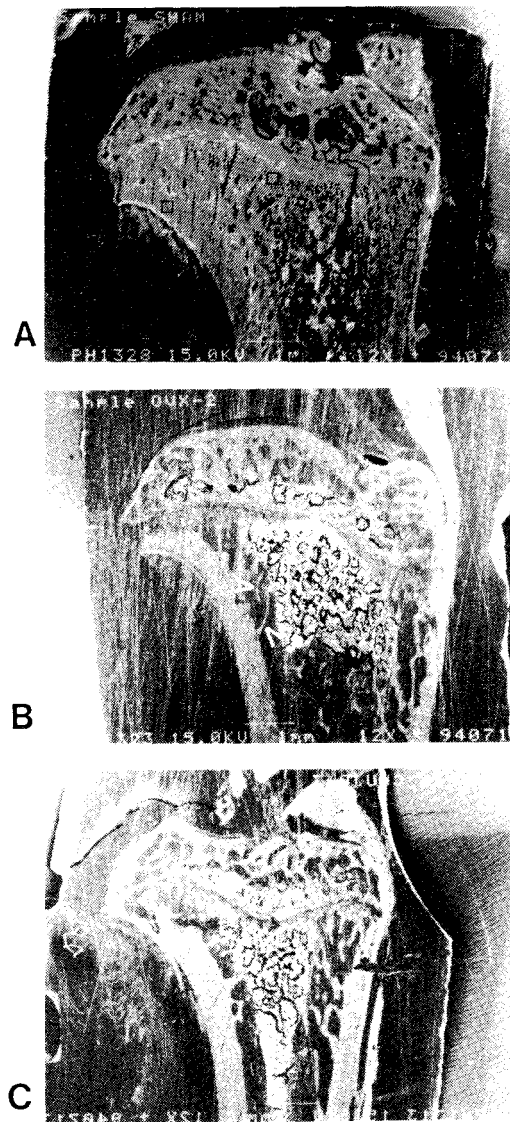


Fig. 3 Scanning electron micrographs of the $60 \mu\text{m}$ thick sections of the proximal tibia from sham-operated (A), ovariectomized (B), and given Chujo-to after ovariectomized (C), respectively. Squares in (A) indicate from the left to the right site 1, site 2, and site 3 where electron probe microanalyses were carried out. V letters in (B) indicate the thinned trabecular bone.

トの脛骨を用いて、3箇所ずつ SEM 像観察したところ、Table II に示したように、Sham 群は 100 % きめ細かい粒子状態であった (Fig. 4A) のに対し、OVX 群では 87.5 % が融合した状態 (Fig. 4B)、12.5 % が中間型であった。中将湯投与群では 95.8 % がきめ細かい粒子状態であった (Fig. 4C)。

Table II Frequency of occurrence in three types of surfaces of trabecular bones in the metaphysis.

	Frequency					
	Fine particles	(%)	Intermediate	(%)	Erosive	(%)
Sham	24/24	100	0/24	0	0/24	0
OVX	0/24	0	3/24	12.5	21/24	87.5
OVX+Chujo-to	23/24	95.8	1/24	4.2	0/24	0

Using eight rats, three trabecular bones in the metaphysis per one tibia were analyzed on their surface state by SEM at an enlarged magnification.

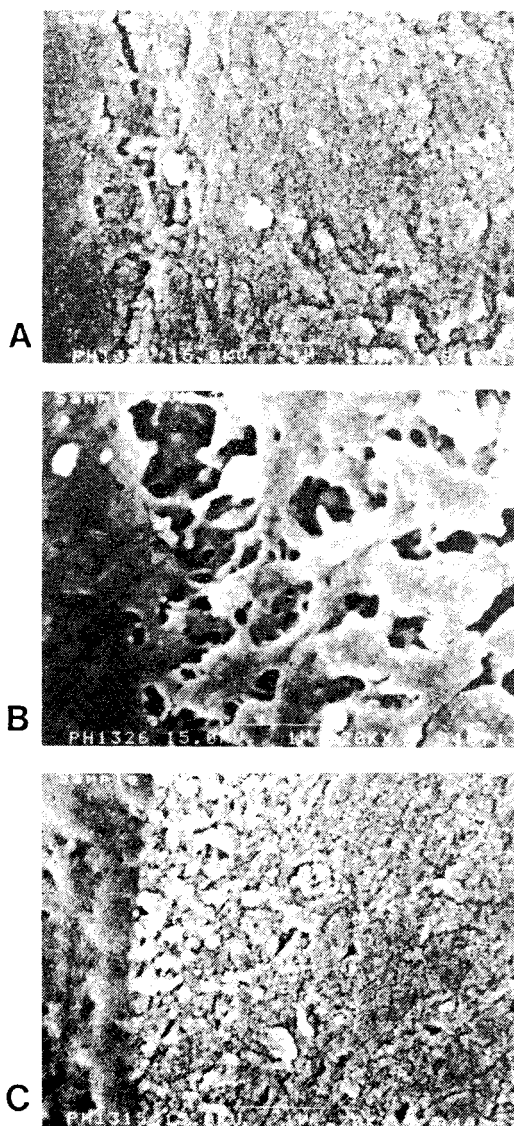


Fig.4 Scanning electron micrographs of the trabecular bone in the metaphysis of sham-operated (A), ovariectomized (B), and given Chujo to after ovariectomized (C).

3. カルシウムに対するリン, マグネシウム, ナトリウムの比率の比較

5匹のラットにつき, 1箇の脛骨近位部縦断面の3箇所を定量的に元素分析した(3箇所に関しては Fig. 3Aに黒枠で示した)。(1群, 1脛骨, 1箇所につき3-5回測定し, 15-25の検査より平均値 $\pm$ S.D.で表した)。この場合, 骨粗鬆症の影響が少ないと考えられる皮質骨に接した, サイト1(腓骨面の皮質骨に接する部位)とサイト3(外側皮質骨に接する部位), 影響を受けると考えられるサイト2(成長板面に接する部位)の3箇所を選んだ。Table IIIに示したように, 腓骨面の皮質骨に接する部位であるサイト1ではCa/P比とCa/Na比に差はなかったが, Ca/Mg比でOVX群だけが大きかった。このCa/Mg比は中将湯投与によりSham群と同じになっていた。脛骨骨端海綿骨の性状を表すサイト2ではCa/P比とCa/Mg比とCa/Na比がOVX群とOVX+中将湯群でSham群に比べ小さかった。また外側皮質骨に接する

Table III Weight ratios to calcium at three sites of the rat tibia.

	Ca/P	Ca/Mg	Ca/Na
Site 1			
Sham	1.45 $\pm$ 0.12	19.1 $\pm$ 2.0	16.8 $\pm$ 1.5
OVX	1.46 $\pm$ 0.11	26.5 $\pm$ 2.4*	19.5 $\pm$ 1.7
OVX+ Chujo-to	1.45 $\pm$ 0.12	16.5 $\pm$ 1.5	15.1 $\pm$ 1.2
Site 2			
Sham	1.45 $\pm$ 0.11	19.4 $\pm$ 1.7	27.8 $\pm$ 2.3
OVX	1.33 $\pm$ 0.11*	12.5 $\pm$ 1.3*	17.1 $\pm$ 2.0*
OVX+ Chujo-to	1.30 $\pm$ 0.11*	13.8 $\pm$ 1.3*	15.8 $\pm$ 1.6*
Site 3			
Sham	1.54 $\pm$ 0.13	19.1 $\pm$ 1.7	19.7 $\pm$ 1.7
OVX	1.39 $\pm$ 0.11*	17.5 $\pm$ 1.6	14.8 $\pm$ 1.3*
OVX+ Chujo to	1.40 $\pm$ 0.11*	19.1 $\pm$ 1.5	21.7 $\pm$ 1.9

*Significant difference ($p < 0.05$), when compared to the Sham.

#Significant difference ($p < 0.05$), when compared to the OVX.

部位であるサイト3ではサイト2と同じくCa/P比がOVX群とOVX+中将湯群でSham群に比べ小さく、さらに、Ca/Na比がSham群に比べ、OVX群で小さかった。このCa/Na比はOVX+中将湯群とSham群とで差がなかった。

4. 大腿骨の強度及び変形量

ラット大腿骨の骨折を生じる完全破断点の荷重ではSham群とOVX群で差がなかった。中将湯投与はそれらの値より有意に骨強度を増加させた(Table IV)。しかし破断点までの距離でみるとSham群とOVX群で差が見られ、Sham群に比較しOVX群で有意に大きくなっており、中将湯投与によりSham群と同じになる傾向が見られた(Table IV)。

Table IV Mechanical properties of the rat femur.

	Maximal bending strength (kgf)	Ultimate strain to failure point (mm)
Sham	22.56±0.92	0.96±0.15
OVX	22.19±0.38	1.22±0.11*
OVX+Chujo to	28.35±0.87*	1.14±0.17

*Significant difference ($p < 0.05$), when compared to the Sham.

#Significant difference ($p < 0.05$), when compared to the OVX.

5. 下顎骨と頭頂骨のSEM像

下顎骨関節突起部と頭頂骨の骨膜におおわれた表面はSham群では細かい縞模様があるのに対し、OVX群では粗くなり、OVX+中将湯群ではSham群に見られる細かい縞模様に近づいていた。(Figs. 5A, 5B, 5C)。同様のSham群とOVX+中将湯群で表面模様が似ている傾向が、頭頂骨でも見られた(Figs. 6A, 6B, 6C)。

考 察

ラット卵巣摘除は特徴的に摂食量と体重の増加を伴うが、エストロゲン投与によりこれら両者の増加は抑制されることが報告されている^{3, 18)}。中将湯浸出液(24.8倍希釈)を飲料水として与えた時、一週間だけ体重増加が抑えられていた(Fig. 1)。このことは中将湯に体重抑制効果の可能性を示唆する。しかし、エストロゲンを投与した時のように、^{3, 18)}全期間にわたる体重抑制ではないことから中将湯の効果はエストロゲンのみのはたらきでないかもしれない。何故なら、後述のように中将湯には脛骨

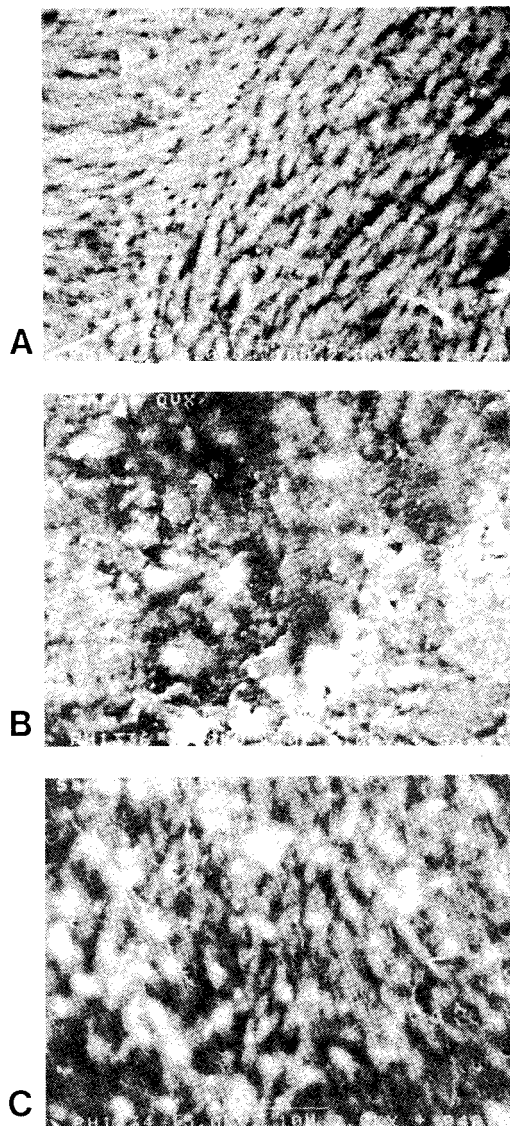


Fig. 5 Scanning electron micrographs of the mandibula from sham-operated (A), ovariectomized (B), and given Chujo-to after ovariectomized (C).

の海綿骨に対するかなり強い粗鬆症状の抑制効果が見られるからである。

卵巣摘出した3カ月ラットを50日間飼育すると明かに骨梁数の減少を伴う骨粗鬆症が起きていた(Figs. 2, 3)。それは海綿骨の数の減少で特徴的に知られる⁴⁾。

さらに、OVX群では海綿骨が粗となり、溶けて融合した状態となっていたのは、卵巣摘出ラットでは骨形成と骨吸収の両者が亢進し、骨吸収が優位に増加した高回転

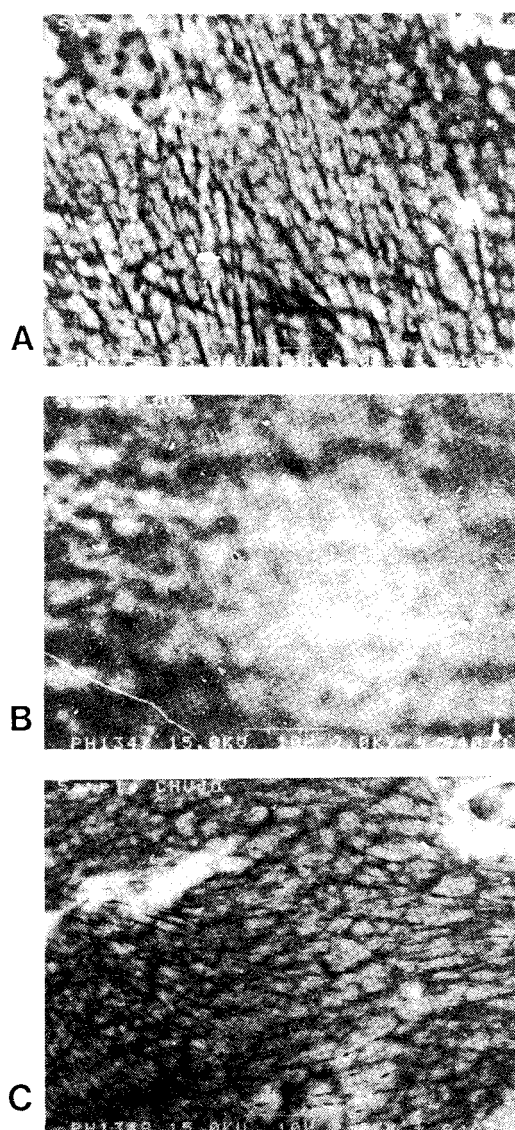


Fig.6 Scanning electron micrographs of calvaria from sham operated (A), ovariectomized (B), and given Chujo to after ovariectomized (C).

型骨粗鬆が起きるためと考えられる。¹⁹⁾従ってこのOVX群の変性像は骨吸収促進によるカルシウム離脱の結果を示すものであろう。中将湯投与は海綿骨の数を増加させこの骨性状に関してはSham群と差がなかった (Table II, Fig. 4)。このことは明かに中将湯投与が骨粗鬆症の発病を抑制していることを示すものである。

OVX群とSham群との比較でOVX群に一部で骨梁幅の減少が見られたことは、これまでに、ラットを用い

た実験的骨粗鬆症で報告されていない。3カ月齢で卵巣摘出を施行し、50日飼育の成熟ラットモデル (Mature rat model) に特徴的なかどうか今のところわからない。

脛骨以外の部位での骨表面を比較した場合, Sham群, OVX群, OVX+中将湯群の間で, 同様の傾向が下顎骨 (Fig. 5) と頭頂骨とで見られた (Fig. 6)。このことは脛骨の海綿骨でみられる骨粗鬆症が下顎骨と頭頂骨の皮質骨の変化を伴っており, 骨粗鬆症が全身的に起きる可能性が示唆された。しかし, 卵巣摘出後の脛骨近位部と大腿骨遠位部の骨量の推移はSham群より低い値であるが, 頭蓋骨, 尾椎の骨量は逆にSham群より高い値を示す。²⁰⁾また, 脛骨近位部と第一腰椎の卵巣摘出後の骨量減少を比較すると, 海綿骨の50%減少日数は, 脛骨近位部では30-60日, 第一腰椎では270日である。^{19), 21)}このように, 卵巣摘出後の骨量推移には部位により相違があり, さらに, 必ずしも減少とは限らないのである。このことから, 頭頂骨と下顎骨の表面模様様変化 (Figs. 5, 6) は骨量に関しては増加した結果かもしれない。

骨粗鬆症ラットでは灰化した大腿骨のCa/P比がSham群に比べ小さくなることが報告されている。¹⁾しかしこれは骨を灰化してトータルで見たものであり, 骨の微細部位では異なることが予想された。実際, 微細部位を分析して元素の重量比率で見ると, 最も骨粗鬆症の影響を受けやすいと推測される脛骨骨端の海綿骨 (サイト2) のCa/P比に差が生じていたが, 影響を受けにくいと考えられる外側皮質骨に接する部位 (サイト3) のCa/P比にも差が生じていた (Table III)。このことは同じく皮質骨に接していても, 腓骨側皮質骨に接する部位 (サイト1) が変化を受けにくいことを示しているのかも知れない。さらに, Ca/Mg比とCa/Na比にも全サイトで差が生じていた (Table III)。このことより, MgとNaの骨代謝への関与が知られる。特に, Mgはアバタイト形成を抑制し, その含量が増えると骨の溶解度が増すことが知られている。²²⁾このようにCa/P, Ca/Mg, Ca/Na比で差が見られたものの, 統一的法則性は見あたらず, 結局, 最も骨粗鬆症を反映するサイト2でOVX群とOVX+中将湯群が同じであったことより, 中将湯の効果も完全にSham群と同じレベルとは言えないと考えられる。

機械的強度の評価は骨そのものにさまざまな要素があることと, 標本の水分含量や保存条件, 試験時の温度の違いなどにより測定値が強く影響を受けるため, 相対的な各群の比較により判定される。²³⁾大腿骨の骨強度ではSham群とOVX群で差が見られなかった。OVX+中将湯群はSham群よりも骨強度を増加しているが (Table IV), このことは中将湯に骨強度を強めるビタミンD

類様物質が含有されていることを示唆する。しかし破断点までの距離では Sham 群と OVX + 中将湯群に比べ OVX 群の値が大きかったので、OVX ラットの骨が柔らかくなっていることが示された。このことは、OVX による骨の有機物（コラーゲン）の変性を示唆する。

中将湯の 16 種類の構成生薬の中でも (Table I 参照)、芍薬と茯苓、芍薬 + 茯苓 + 当帰で血中のプロゲステロン濃度が、また芍薬と茯苓、茯苓 + 蒼朮では卵巣中のプロゲステロン濃度が増加することが報告されている。²⁴⁾ (ただし、蒼朮単独では抑制する)。また、不妊内分泌領域において頻用されている漢方製剤、八味地黄丸、当帰芍薬散、桂枝茯苓丸、人参湯、温経湯は、当帰、芍薬、茯苓、蒼朮、桂枝などの構成生薬が中将湯と共通であり、実際に、*in vivo* で当帰芍薬散が、*in vitro* で当帰芍薬散と八味地黄丸が卵巣のプロゲステロン濃度を上昇させることが報告されている。²⁵⁾ それ故に、中将湯の骨粗鬆症に対する発症抑制メカニズムの一つとしては、骨に作用することが知られているエストロゲン様の作用²⁶⁾ であろうと考えられる。ただし、先述のように中将湯の体重抑制効果はエストロゲン単独投与のように長期間にわたるものではないので、エストロゲン活性のみでは説明できない。作用メカニズムについてはさらに研究を要する。なお、さまざまな成分が含まれる中将湯の作用点の一つではないかもしれない。

また、閉経後だけでなく、悪性腫瘍により卵巣摘出した場合、無月経、卵巣機能不全、神経性食思不振症などでも同じく骨量減少を示すことが知られており、²⁶⁾ 中将湯のこれら他の疾患への適用も考えられる。

結 論

中将湯浸出液を卵巣摘出したラット (OVX 群) に投与したところ無投与群の腰骨が骨粗鬆症状態を呈していたのに対し、投与群ではその発病が抑制されていた。このことは、今回初めて伝承大衆薬である中将湯の骨粗鬆症の発病を抑制する効果を確認したものであり、セルフメディケーションの観点からも重要であると考えられる。

謝 辞

骨の軟 X 線撮影につき技術的助言を頂いた、日本歯科大学新潟校の中村康則先生に感謝申し上げます。

References

1) Albright, F., Smith, P.H. and Richardson, A.M.: Postmenopausal

osteoporosis: its clinical features. *J. Amer. Med. Assoc.* **116**, 2465-2474, 1941.

2) Kalu, D.N.: The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner.* **15**, 175-192, 1991.

3) Roudebush, R.E., Magee, D.E., Benslay, D.N., Bendele, A.M. and Bryant, H.U.: Effect of weight manipulation on bone loss due to ovariectomy and the protective effects of estrogen in the rats. *Calcif. Tissue Int.* **53**, 61-64, 1993.

4) Togari, A., Arai, M., Hironaka, M., Matsumoto, S. and Shinoda, H.: Effect of HEBP (1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate) on experimental osteoporosis induced by ovariectomy in rats. *Jap. J. Pharm.* **56**, 177-185, 1991.

5) Takagi, T., Yamamoto, T., Asano, S. and Tamaki, H.: Effect of prostaglandin D₂ on the femoral bone mineral density in ovariectomized rats. *Calcif. Tissue Int.* **52**, 442-446, 1993.

6) Broulik, P.D.: Tamoxifen prevents bone loss in ovariectomized mice. *Endocrine Regul.* **25**, 217-219, 1991.

7) Lundy, M.W., Russell, J.E., Avery, J., Wergedal, J.E. and Baylink, D.J.: Effect of sodium fluoride on bone density in chickens. *Calcif. Tissue Int.* **50**, 420-426, 1992.

8) Ettinger, B., Genant, H.K. and Cann, C.E.: Postmenopausal bone loss is prevented by treatment with low-dosage estrogen with calcium. *Ann. Intern. Med.* **106**, 40-45, 1987.

9) Heaney, R.P., Paul, D. and Saville, P.D.: Etidronate disodium in postmenopausal osteoporosis. *Clin. Pharm. Ther.* **20**, 593-604, 1976.

10) Mazzuoli, G.F., Passeri, M., Gennari, C., Minisola, S., Antonelli, R., Voltorta, C., Palummeri, E., Cervelli, G.F., Gonnelli, S. and Francini, G.: Effect of salmon calcitonin in postmenopausal osteoporosis: a controlled double-blind clinical study. *Calcif. Tissue Int.* **38**, 3-8, 1986.

11) Morris, H.A., Need, A.G., Horowitz, M., O'Loughlin, P.D. and Nordin, B.E.C.: Calcium absorption in normal and osteoporotic postmenopausal women. *Calcif. Tissue Int.* **49**, 240-243, 1991.

12) Agnusdei, D., Camporeale, A., Zacchei, F., Gennari, C., Baroni, M., Costi, D., Biondi, M., Passeri, M., Ciacca, A., Sbrenna, C., Falsetti, E. and Ventura, A.: Effects of ipriflavone on bone mass and bone remodeling in patients with established postmenopausal osteoporosis. *Curr. Ther. Res.* **51**, 82-91, 1992.

13) Reeve, J., Bradbeer, J.N., Arlot, M., Davies, U.M., Green, J.R., Hampton, L., Edouard, C., Hesp, R., Hulme, P., Ashby, J.P., Zanelli, J.M. and Meunier, P.J.: hPTH 1-34 treatment of osteoporosis with added hormone replacement therapy: biochemical, kinetic and histological responses. *Osteoporosis Int.* **1**, 162-170, 1991.

14) Tsumura hanbai katarogou: Josei to Kenkou. Tsumura, Tokyo, 1985.
ツムラ販売カタログ: 女性と健康. ツムラ, 東京, 1985.

15) Taishuyaku jiten, Nihon Taishuyaku Kougyou Kyokai (Hen), Dai 4 han, 1991.
大衆薬事典, 日本大衆薬工業中協会 (編), 第 4 版, 1991.

16) Nakamura, Y., Noda, S., Masuhara, T., Ito-Kuwa, S., Nakamura, K. and Aoki, S.: Radiographic features of experimental *Candida* arthritis in rats. *Mycopath.* **121**, 65-75, 1993.

17) Birks, L.S.: *Electron Probe Microanalysis*. John & Wiley Sons, New York, 1963.

18) Clark, R.C. and Tarttelin, M.F.: Some effects of ovariectomy and estrogen replacement on body composition in the rat. *Physiol. Behav.* **28**, 963-969, 1982.

19) Wronski, T.J., Cintron, M. and Dann, L.M.: Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovar-

- iectomized rats. *Calcif. Tissue Int.* **43**, 179-183, 1988.
- 20) Nagashima, H. : Longitudinal study of *in vivo* bone mineral changes in rats using dual X ray absorptiometry. *J. Jpn. Orthop. Assoc.* **67**, 1151-1161, 1993.
- 21) Wronski, T.J., Dann, L.M. and Horner, S.J. : Time course of vertebral osteopenia in ovariectomized rats. *Bone* **10**, 295-301, 1989.
- 22) Okazaki, M., Takahashi, T. and Kimura, H. : Unstable behavior of magnesium containing hydroxyapatites. *Caries Res.* **20**, 324-331, 1986.
- 23) Iida, M. : Kotsurikigakuteki kyodohou. *J. Jap. Orthop. Assoc.* **65**, 240-249, 1991.
飯田勝 : 骨力学的強度法, 日整会誌 **65**, 240-249, 1991.
- 24) Usui, S., Iwasaki, H., Miyagawa, S., Shigemitsu, S., Saito, M., Okane, M., Kusumi, M., Kawamura, E. and Shiota, M. : Kampo seizai to gonadal steroidogenesis. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN YAKU* **3**, 219-222, 1986.
臼杵慈, 岩崎寛和, 宮川創平, 重光貞彦, 斎藤正博, 岡根真人, 楠美和子, 川村恵夫, 塩田正樹 : 漢方製剤と gonadal steroidogenesis. 和漢医薬学会誌 **3**, 219-222, 1986.
- 25) Usui, S. and Sakamoto, K. : Toki shakuyaku to no kakukousei shouyaku no outaikinou ni oyobosu eikyou ni suite. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN YAKU* **4**, 264-265, 1987.
臼杵慈, 坂本賢二 : 当帰芍薬散の各構成生薬の黄体機能に及ぼす影響について, 和漢医薬学会誌 **4**, 264-265, 1987.
- 26) Minaguchi, H. and Gorai, I. : Ransou tekishutsugo kotsusoshou-shou. *Nihonrinshou* **48**, 2893-2897, 1990.
水口弘司, 瓦来逸雄 : 卵巣摘出後骨粗鬆症, 日本臨床 **48**, 2893-2897, 1990.