

幼若正常ならびに成熟去勢雌ラットに対する 生薬薏苡仁を含む漢方薬の基礎的研究

左雨 秀治

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 機能・調節疾患研究 (内分泌)

Studies of Kampo medicines which contain the medicinal plant 'Yokuinin' in normal immature and gonadectomized mature female rats

Shuji SASSA

Department of Endocrinology, Division of Functional Disorder Research, Medical Research Institute,
Tokyo Medical and Dental University

(Received September 19, 1996. Accepted November 27, 1996.)

Abstract

The medical plant Yokuinin ; i.e., *Coix lacryma-jobi* L. var *ma-yuen* STAPF, has been known to reduce serum calcium level and promote ovulatory-activity. Clinically, Yokuinin has been used for the treatment of pain in muscles and joints in orthopedics and irregular menstruation in gynecometrics. In the present study, we investigated the effects of Kampo medicines which comprise Yokuinin, i.e., Yokuinin-to (TJ-52), Makyo-yokukan-to (TJ-78) and Keishi-bukuryo-gan-ka-yokuinin (TJ-125), on the vaginal opening as the onset of estrous cycle in immature female rats and on serum levels of gonadotropin, steroid hormone and calcium in mature ovariectomized rats. Daily oral administration of TJ-78, but not TJ-52 and TJ-125, accelerated the vaginal opening in immature rats ($p < 0.05$). On the other hand, in mature ovariectomized rats, of which, in general, gonadotropins were increased and ovarian hormones were decreased, TJ-78 tended to enhance the serum levels of estrone, estradiol, progesterone and dehydroepiandrosterone sulfate, with reduction of serum luteinizing hormone and calcium levels.

These results indicate that Makyo-yokukan-to stimulates steroid hormone synthesis including estrogens via the hypothalamo-pituitary-ovarian axis, resulting in reduction of serum calcium level, i. e., this attractive herbal drug may be valuable for the treatment and/or prevention of osteoporosis in pre- and post-menopausal women.

Key words Yokuinin, Makyo-yokukan-to, vaginal opening, gonadectomy.

Abbreviations Yokuinin (*Coix lacryma-jobi* L. var *ma-yuen* STAPF.), 薏苡仁; Yokuinin-to (Yi-Yi-Ren-Tang), 薏苡仁湯; Makyo-yokukan-to (Ma-Xing-Yi-Gan-Tang), 麻杏薏甘湯; Keishi-bukuryo-gan-ka-yokuinin (Gui-Zhi-Fu-Ling-Wan-Jia-Yi-Yi-Ren), 桂枝茯苓丸加薏苡仁; LH, luteinizing hormone; FSH, follicle stimulating hormone; P₄, progesterone; DHEA-S, dehydroepiandrosterone sulfate; E₁, estrone; E₂, estradiol; o-PCP, o-cresolphthalein complexone.

緒 言

近年、高齢化社会になりつつある日本でも高齢者の

Quality of Life が問題となっており、特に婦人の閉経期以降における骨のモデリングのアンバランスによって起こる骨粗鬆症は、大きな社会問題となっており、決定的な治療法は見つかっていない。つまり、卵巣機能の低

下によってエストロゲンの産生が減少するため骨の形成される速度に比べて骨の吸収される速度が亢進されることに起因している。現在、最も効果的な治療法は、エストロゲンの投与であるが、子宮内膜癌などの発癌というリスクが伴い問題がある。その他にも活性型ビタミンD₃、骨吸収抑制剤やサイトカインなどの研究が盛んに行われているが、よい治療法が見つからないのが現状である。今回、我々は視点を変えて古来から用いられている漢方薬に注目し、いろいろな生薬について検討した結果、薏苡仁 (*Coix lacryma-jobi* L. var *ma-yuen* STAPF.) には排卵誘発作用や血清カルシウム値を低下させるという報告^{1,2)}があり、また実際、この生薬を含む薏苡仁湯や麻杏薏苡湯は関節痛、筋肉痛や神経痛の治療薬として用いられている。さらに婦人病の治療薬として桂枝茯苓丸加薏苡仁が用いられている。しかし、この3種類の漢方薬の内分泌動態への影響について検討した報告は見られない。そこで幼若雌ラットの腔開口日齢への影響、成熟去勢雌ラットの血中ホルモン値 (LH, FSH, progesterone, DHEA-sulfate, estrone, estradiol) ならびに血中カルシウム濃度への影響を検討した。なお、生薬薏苡仁は、民間薬としてはイボとり用に用いられ、前述以外の薬理作用としては、中枢神経抑制作用、抗腫瘍作用、筋弛緩作用や免疫作用などが報告²⁾されている。

材料と方法

1) 漢方薬：今回使用した漢方薬は、薏苡仁湯 (TJ-52) (Lot No.920052001P0)、麻杏薏苡湯 (TJ-78) (Lot No.240078010) ならびに桂枝茯苓丸加薏苡仁 (TJ-125) (Lot No.910125001P0) のエキス末で(株)ツムラより供与されたものである。なお、これらの漢方薬の構成生薬は、Table I の通りである。

2) 実験動物：

(1) 幼若雌ラットの腔開口日齢を観察するために、生後20日齢のSprague-Dawley (SD) 系雌ラットを25匹購入し、正常無処置ラット (対照群) 7匹、薏苡仁湯を投与するラット (TJ-52群) 6匹、麻杏薏苡湯を投与するラット (TJ-78群) 6匹ならびに桂枝茯苓丸加薏苡仁を投与するラット (TJ-125群) 6匹に分け、生後21日齢よりすべてのラットが腔開口するまで漢方薬を連日投与した。投与方法は、ラット用経口ゾンデを用いて経口投与した。それぞれの漢方薬の投与量は、臨床でのヒト投与量7.5g/日に含まれる漢方薬エキス末量より各ラット100g体重当たり TJ-52は100mg、TJ-78は60mgならびに TJ-125は75mgとした。これらを0.5mlの蒸留水に懸濁し、投与を行った。ただし、対照群には、体重100g当

Table I Components of Kampo medicines.

	Yokuinin-to (TJ-52)	Makyo-yokukan- to (TJ-78)	Keishi-bukuryo- gan-ka-yokuinin (TJ-125)
Ykuinin	○ 8.0 g	○ 10.0 g	○ 10.0 g
Toki	○ 4.0 g		
Mao	○ 4.0 g	○ 4.0 g	
Keihi	○ 3.0 g		○ 4.0 g
Shakuyaku	○ 3.0 g		○ 4.0 g
Kanzo	○ 2.0 g	○ 2.0 g	
Sojutsu	○ 4.0 g		
Kyonin		○ 3.0 g	
Tonin			○ 4.0 g
Bukuryo			○ 4.0 g
Botampi			○ 4.0 g

○ : Containing the medicinal plant

り0.5mlの蒸留水を投与した。また、すべてのラットが腔開口した時点で屠殺を行い、肝臓、脾臓、副腎ならびに卵巣を摘出し湿重量を測定し、各臓器への影響を検討した。

(2) 成熟去勢雌ラットの血中ホルモン値および血中カルシウム濃度への影響についての実験は、生後7週齢のSD系雌ラット25匹を購入し、2週間予備飼育して実験に供した。生後9週齢で卵巣の摘出を行い、8週間放置した後に漢方薬の投与を開始した。成熟去勢雌ラット25匹は、(1)の実験と同様に対照群7匹、TJ-52群6匹、TJ-78群6匹ならびにTJ-125群6匹に分け、(1)の実験と同様の方法で、各漢方薬群に8週間連日経口投与を行った。対照群に対しても(1)の投与割合と同じである。次に採血であるが投与4および8週間でエーテル麻酔下で2.5mlを心臓穿刺により行った。なお、エーテル麻酔による血中ホルモンへの影響が出ないように各ラット5分以内で採血を行った。採血した血液は、ヘパリンを添加し3,000rpm、4℃で20分間遠心分離した後、血清をホルモンとカルシウムの測定時まで-30℃で保存した。また、投与8週間では、採血後屠殺し脾臓と副腎を摘出して湿重量の測定を行った。ラットの飼育は、室温23±1℃、湿度50±10%、1日14時間(6:00~20:00)照明下で、固形飼料と水は自由に摂取させた。

3) ホルモンの定量：血中LHならびにFSH値の測定は、National Institute of Diabetes and Digestive, and Kidney Disease (NIDDK) 提供によるrat LHならびにFSHの各キットを用い、二抗体法によるradioimmunoassay (RIA) で行った。また、ステロイドホルモ

ンである progesterone (P_4), dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S), estrone (E_1) ならびに estradiol (E_2) の測定には, 市販の RIA キットを使用した。

(1) rat LH ならびに FSH の標識: 標識抗原は, NIDDK 提供の rat LH (NIDDK-rLH-I-9) ならびに rat FSH (NIDDK-rFSH-I-8) を用いた。 ^{125}I の標識は, 試薬として Na^{125}I (Amersham: IMS-30), lactoperoxidase (Boehringer Mannheim GmbH: 107174), 過酸化水素水(三菱瓦斯化学), サッカロース(ナカライ化学) および NaI (和光純薬) を用い, lactoperoxidase 法で行った。また, B/F 分離には sephadex G-75 (pharmacia) を充填した column で行った。

(2) LH ならびに FSH の定量: 測定は RIA による二抗体法で行い, 標準品として NIDDK 提供の標準 rat LH (NIDDK-rLH-RP-3) と rat FSH (NIDDK-rFSH-RP-2) を, 第一抗体は rat LH antiserum (NIDDK-anti-rLH-S-11) と rat FSH antiserum (NIDDK-anti-rFSH-S-11) とを用いた。また, 第二抗体は, 第二抗体抗ウサギ山羊血清「栄研」キット (栄研 ICL: I-RX17) を用いた。なお, 測定内再現性の変動係数は, LH においては 7.8%, FSH では 8.3% であった。

(3) ステロイドホルモンの定量: 血中 P_4 および E_2 値の測定には, 日本 DPC コーポレーション社製 DPC プロゲステロンキットと DPC エストラジオール二抗体キットとを用い, 測定内再現性の変動係数は, P_4 が 7.2%, E_2 では 4.8% であった。また, 血中 DHEA-S および E_1 値の測定は, 三菱化学社製 DHEA-サルフェート RIA「ミツビシ」と DIRECTESTRONE RIA キットを使用し, 測定内再現性の変動係数は, DHEA-S が 3.0%, E_1 で 6.8% であった。

4) カルシウムの定量: 血中のカルシウムの測定は, o-cresolphthalein complexone (o-PCP) による比色法で行った³⁾。吸光度の測定波長は 575 nm で, 島津製作所の分光光時計 (UV-240) を使用した。用いた試薬は, 5% ヒドロキシキノリン溶液を 8-hydroxyquinoline (特級: 和

光純薬) とエタノール (精密分析用: 和光純薬) とから調製し, o-PCP 溶液は, phthalein complexone (ドータイド), 水酸化カリウム (特級: 和光純薬), 酢酸 (特級: 和光純薬), triton X-100 (和光純薬), 5% ヒドロキシキノリン溶液および蒸留水から調製した。緩衝液は, 酢酸カリウム (特級: 和光純薬), 塩酸 (特級: 和光純薬), ジエチルアミン (特級: 和光純薬) に蒸留水を加えて調製した。また, カルシウム標準液は, 炭酸カルシウム (特級: 和光純薬) を 1N の塩酸で溶解後, 1 mgCa/ml になるように蒸留水で調製した。

5) 統計学的解析: 測定結果の平均値は, mean $\pm$ S.E.M. で表記し, 統計学的解析は, smirnoff's 棄却検定による student's *t*-test あるいは cochrane-cox test を用いて行った。

結 果

1) 幼若雌ラットの腔開口日齢への影響

幼若雌ラットの腔開口日齢は, 経時的に腔開口率 (%) を表すと Fig. 1 に示す通りである。各群の平均腔開口日齢は, 無処置の対照群が 30.8 ± 0.17 日齢であるのに対して漢方薬を投与した TJ-52 群は 30.7 ± 0.42 日齢, TJ-78 群は 29.3 ± 0.21 日齢ならびに TJ-125 群は 30.7 ± 0.49 日齢という結果が得られ, TJ-78 群では対照群に比して腔開口が有意 ($p < 0.05$) に早まった。しかし, TJ-52 群ならびに TJ-125 群では腔開口が早まらなかった。

次に, すべてのラットが腔開口した時点での体重, 臓器の湿重量ならびに腔開口時の体重は Table II に示す通りである。肝臓の湿重量は, 体重 100 g 当たり対照群が 4.74 ± 0.10 g に対して TJ-125 群で 4.37 ± 0.11 g と有意 ($p < 0.05$) に軽かった。また, 副腎の湿重量は, 体重 100 g 当たり対照群が 20.9 ± 0.89 mg であるのに対して TJ-52 群は 22.9 ± 1.13 mg, TJ-78 群は 22.9 ± 1.16 mg ならびに TJ-125 群は 21.6 ± 0.93 mg と TJ-52 群と TJ-78 群で対照群に比して増加傾向 (TJ-52 群, TJ-78 群: $p <$

Table II Effects of Kampo medicines on body weight and body weight of vaginal opening, and organs wet weight in immature female rats.

	Body Weight (g)	B.W. of vaginal op. (g)	Ovary (mg/100 g B.W.)	Adrenal (mg/100 g B.W.)	Spleen (mg/100 g B.W.)	Liver (g/100 g B.W.)
Control	124.7 ± 3.2	$108.4 \pm 3.2^*$	34.2 ± 2.40	20.9 ± 0.89	338.0 ± 8.4	$4.74 \pm 0.10^*$
TJ-52	128.7 ± 1.7	109.7 ± 2.5	34.9 ± 1.63	22.9 ± 1.13	350.3 ± 27.6	4.72 ± 0.15
TJ-78	125.7 ± 0.8	$98.7 \pm 1.7^*$	34.3 ± 1.56	22.9 ± 1.16	323.8 ± 10.5	4.80 ± 0.11
TJ-125	128.0 ± 3.0	107.5 ± 4.5	34.2 ± 1.48	21.6 ± 0.93	327.1 ± 5.2	$4.37 \pm 0.11^*$

B.W. of vaginal op.: body weight of vaginal opening

*: $p < 0.05$ Control vs TJ-78, TJ-125

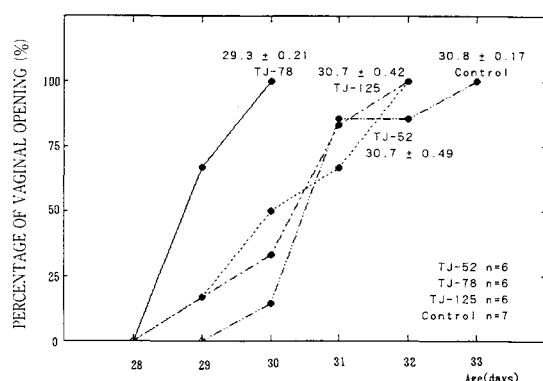


Fig. 1 Rate of vaginal opening. TJ-52 : Yokuinin-to, TJ-78 : Makyo-yokukan-to, TJ-125 : Keishi-bukuryo-gan-ka-yokuinin.

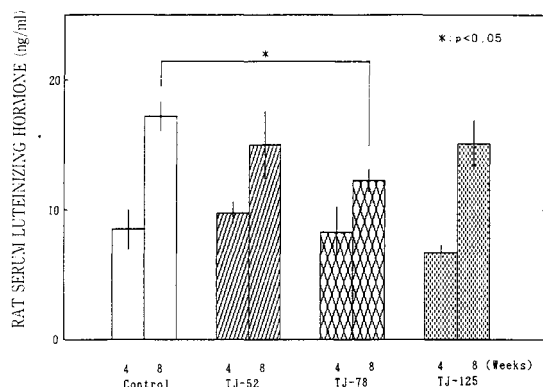


Fig. 2 Effect of Kampo medicines on serum LH level in mature ovariectomized rats. TJ-52 : Yokuinin-to, TJ-78 : Makyo-yokukan-to, TJ-125 : Keishi-bukuryo-gan-ka-yokuinin.

0.2)を示したが有意差は認められなかった。その他の脾臓、卵巣の湿重量ならびに体重については、対照群と漢方薬投与群の間に差は認められなかった。なお、膣開口時の体重については、対照群の 108.4 ± 3.2 g に対して TJ-78 群が 98.7 ± 1.7 g と有意 ($p < 0.05$) に軽かったが、他の2群は対照群との差が認められなかった。

2) 成熟去勢雌ラットへの影響

血中 LH 値は、Fig. 2 に示すように、投与4週で対照群は 8.50 ± 1.52 ng/ml を示したのに対して TJ-52 群が 9.75 ± 0.81 ng/ml, TJ-78 群が 8.35 ± 1.93 ng/ml ならびに TJ-125 群が 6.65 ± 0.56 ng/ml を示し有意差は認められなかった。しかし、投与8週では対照群の 17.15 ± 1.09 ng/ml に対して TJ-52 群は 15.04 ± 2.60 ng/ml, TJ-78 群は 12.30 ± 0.86 ng/ml ならびに TJ-125 群は 15.01 ± 1.86 ng/ml と TJ-52 群は減少傾向 ($p < 0.3$) を示し、TJ-

78 群では、対照群に比して有意 ($p < 0.05$) な減少が認められた。

血中 FSH 値は、Fig. 3 に示す如く投与4, 8週とも対照群が 45.1 ± 1.99 ng/ml, 47.8 ± 4.51 ng/ml であったのに対して TJ-78 群では 42.6 ± 1.55 ng/ml, 45.7 ± 1.64 ng/ml と減少傾向 (4, 8週: $p < 0.3$) を示したが、有意差は認めなかった。他の漢方薬を投与した2群でも差は見られなかった。

次に、血中ステロイドホルモン値であるが、血中 P_4 値は Fig. 4 に示すように投与4週で対照群は 8.69 ± 1.22 ng/ml であるのに対して TJ-52 群が 9.83 ± 3.62 ng/ml, TJ-78 群が 15.93 ± 2.37 ng/ml ならびに TJ-125 群が 10.03 ± 1.22 ng/ml となり TJ-125 群で対照群に比して増加傾向 ($p < 0.3$) を示し、TJ-78 群では有意 ($p < 0.05$) な増加が認められた。また、投与8週も対照群の

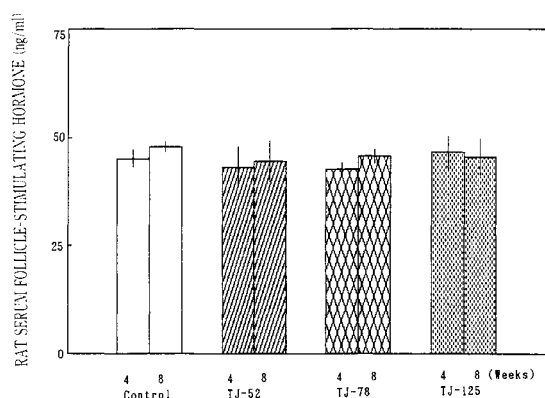


Fig. 3 Effect of Kampo medicines on serum FSH level in mature ovariectomized rats. TJ-52 : Yokuinin-to, TJ-78 : Makyo-yokukan-to, TJ-125 : Keishi-bukuryo-gan-ka-yokuinin.

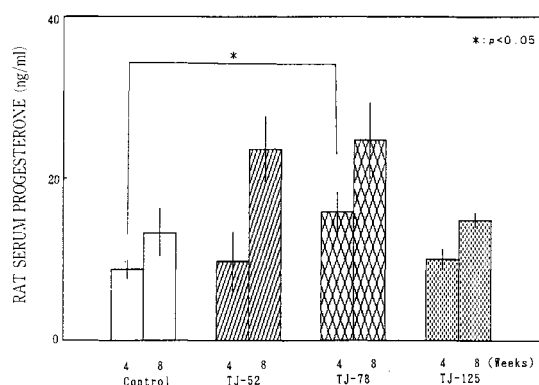


Fig. 4 Effect of Kampo medicines on serum progesterone (P_4) level in mature ovariectomized rats. TJ-52 : Yokuinin-to, TJ-78 : Makyo-yokukan-to, TJ-125 : Keishi-bukuryo-gan-ka-yokuinin.

13.34±2.91 ng/ml に対して TJ-52 群で 23.58±4.03 ng/ml, TJ-78 群で 24.67±4.71 ng/ml ならびに TJ-125 群で 14.87±0.88 ng/ml となり, 対照群に比して TJ-52 群は増加傾向 ($p<0.1$) を示したが有意差は認めなかった。

血中 DHEA-S 値は, Fig. 5 に示すように投与 4 週では, 対照群に比して TJ-52 群および TJ-125 群が減少傾向 (TJ-52 群, TJ-125 群: $p<0.2$) を示したが有意な差は認められなかった。しかし, 投与 8 週では対照群の 21.5±1.04 ng/ml に対して TJ-52 群で 31.3±3.95 ng/ml, TJ-78 群で 40.9±3.02 ng/ml ならびに TJ-125 群で 35.9±4.27 ng/ml と漢方薬を投与した TJ-52 群で増加傾向 ($p<0.1$) を示し, TJ-78 群および TJ-125 群では対照群に比して有意 (TJ-78 群: $p<0.01$, TJ-125 群: $p<0.05$) な増加が認められた。

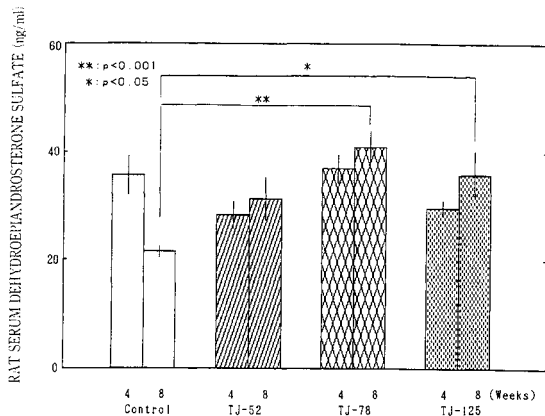


Fig. 5 Effect of Kampo medicines on serum dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) level in mature ovariectomized rats. TJ-52: Yokuinin-to, TJ-78: Makyo-yokukan-to, TJ-125: Keishi-bukuryo-gan-ka-yokuinin.

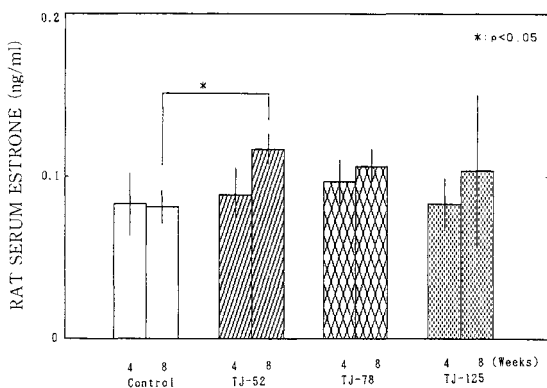


Fig. 6 Effect of Kampo medicines on serum estrone (E_1) level in mature ovariectomized rats. TJ-52: Yokuinin-to, TJ-78: Makyo-yokukan-to, TJ-125: Keishi-bukuryo-gan-ka-yokuinin.

血中 E_1 値は, Fig. 6 の如く投与 4 週は, 対照群の 0.083±0.019 ng/ml に対して TJ-52 群が 0.089±0.016 ng/ml, TJ-78 群が 0.097±0.013 ng/ml および TJ-125 群が 0.083±0.016 ng/ml と対照群と漢方薬投与群の間に差を認めなかった。しかし, 投与 8 週では, 対照群の 0.081±0.010 ng/ml に対して TJ-52 群が 0.117±0.009 ng/ml, TJ-78 群が 0.106±0.011 ng/ml ならびに TJ-125 群が 0.104±0.046 ng/ml と TJ-78 群, TJ-125 群の両群で増加傾向 (TJ-78 群, TJ-125 群: $p<0.2$) を示し, 特に TJ-52 群は対照群に比して有意 ($p<0.05$) な差を認めた。

血中 E_2 値は, Fig. 7 のように投与 4 週では対照群が 5.80±0.92 pg/ml であるのに対して TJ-52 群で 4.02±1.43 pg/ml, TJ-78 群で 4.07±0.66 pg/ml ならびに TJ-125 群で 3.69±1.54 pg/ml と漢方薬を投与した TJ-52 群と TJ-78 群で対照群に比して減少傾向 (TJ-52 群: $p<0.3$, TJ-78 群: $p<0.2$) を示したが, 有意差は認められなかった。ところが, 投与 8 週では対照群の 4.64±1.79 pg/ml に対して TJ-78 群で 5.45±0.28 pg/ml を示したが有意な差は認めなかった。

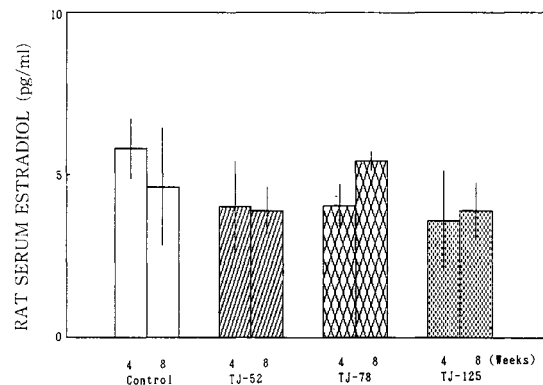


Fig. 7 Effect of Kampo medicines on serum estradiol (E_2) level in mature ovariectomized rats. TJ-52: Yokuinin-to, TJ-78: Makyo-yokukan-to, TJ-125: Keishi-bukuryo-gan-ka-yokuinin.

次に血中カルシウム値であるが, Fig. 8 に示す通り投与 4 週では対照群の 8.64±0.63 mg/dl に対して TJ-52 群が 8.22±0.15 mg/dl, TJ-78 群が 7.69±0.17 mg/dl ならびに TJ-125 群が 7.61±0.29 mg/dl と TJ-78 群と TJ-125 群の両群で減少傾向 (TJ-78 群, TJ-125 群: $p<0.2$) を示したが有意差は認められなかった。また, 投与 8 週においても投与 4 週と同様に対照群に比して漢方薬投与をした TJ-52 群と TJ-125 群の両群で減少傾向 (TJ-52 群: $p<0.1$, TJ-125 群: $p<0.2$) を示したが有意差は認めなかった。

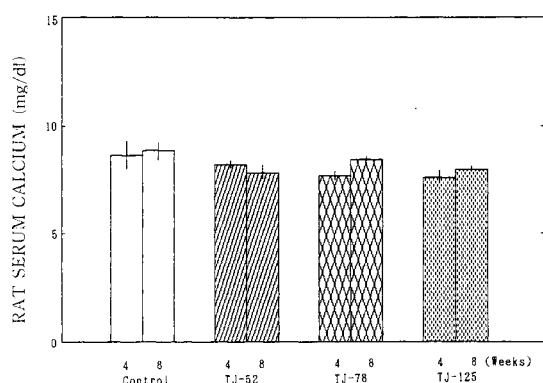


Fig. 8 Effect of Kampo medicines on serum calcium level in mature ovariectomized rats. TJ-52 : Yokuinin-to, TJ-78 : Makyo-yokukan-to, TJ-125 : Keishi-bukuryo-ganka-yokuinin.

Table III Effects of Kampo medicines on body weight and organs wet weight in mature ovariectomized rats.

	Body Weight (g)	Adrenal (mg/100 g B.W.)	Spleen (mg/100 g B.W.)
Control	307.2±17.7	18.1±0.12 ^{ab}	190.0±18.4
TJ-52	292.0±5.1	19.3±1.64	177.2±11.1
TJ-78	286.0±4.6	19.9±0.24 ^a	183.6±0.5
TJ-125	287.8±6.7	21.4±0.68 ^b	191.1±0.4

^a: $p < 0.05$ Control vs TJ-78, ^b: $p < 0.01$ Control vs TJ-125

なお、投与8週での体重ならびに脾臓と副腎の湿重量は、Table IIIに示すように副腎の湿重量が対照群に比して漢方薬投与群で増加傾向を示し、TJ-78群とTJ-125群とで有意差 (TJ-78群: $p < 0.05$, TJ-125群: $p < 0.01$) が認められた。しかし、体重および脾臓の湿重量については差を認めなかった。

考 察

生薬薏苡仁を含む漢方薬による幼若雌ラットの腔開口日齢への影響を観た実験では、正常幼若雌ラットである対照群の腔開口日齢および腔開口時の体重が 30.8 ± 0.17 日齢および 108.4 ± 3.2 gであったのに対して薏苡仁湯を投与した TJ-52群ならびに桂枝茯苓丸加薏苡仁を投与した TJ-125群はそれぞれ 30.7 ± 0.42 日齢, 109.7 ± 2.5 gならびに 30.7 ± 0.49 日齢, 107.5 ± 4.5 gと正常幼若雌ラットの腔開口日齢および腔開口時の体重と差がなく、この2種類の漢方薬は腔開口に影響を与えなかった。しかし、麻杏薏甘湯を投与した TJ-78群では、対照群に比べ

て腔開口日齢が 29.3 ± 0.21 日齢、腔開口時体重が 98.7 ± 1.7 gと有意に腔開口が早まり、腔開口時体重も軽かった。つまり、麻杏薏甘湯には幼若雌ラットを早熟させる作用があると認められる。これは、我々が以前に漢方薬の温経湯で行った幼若雌ラットの腔開口日齢ならびに血中ホルモンへの影響について研究した報告¹⁾と同じである。早熟作用については、岡本、小林や Döhler らの報告^{5, 7)}から推察すると、麻杏薏甘湯が副腎を活性化して副腎性エストロゲンの産生を促進し、このエストロゲンが視床下部-下垂体系に作用して腔開口前に起こる血中ゴナドトロピンの増加する時期を早めたため、腔開口も早まったと推察される。

次に、成熟去勢雌ラットへの作用であるが、麻杏薏甘湯を投与した TJ-78群は蒸留水を投与しただけの対照群に対して血中 LH 値には抑制的に、血中 P_4 ならびに DHEA-S 値は促進的に作用することが示唆された。また、血中 FSH およびカルシウム値には抑制傾向的な作用を、血中 E_1 ならびに E_2 値には促進傾向的な作用を示した。つまり、麻杏薏甘湯は、血中 P_4 ならびに DHEA-S 値を増加させたことから副腎を活性化してステロイドホルモンの産生に促進的に作用し、血中 E_2 ならびに E_1 値を増加させる方向に作用し、アロマターゼ酵素活性に亢進的に作用すると推察される。この産生されたエストロゲンのフィードバックあるいは麻杏薏甘湯の視床下部-下垂体系への直接作用によって、下垂体からのゴナドトロピンの放出に抑制的に作用したと推察される。また、麻杏薏甘湯の視床下部-下垂体系への直接的な作用について推察されることは、構成生薬である杏仁を有機溶媒で抽出すると抽出液にエストロンとエストラジオールとが抱合型と遊離型の両方で混在して含まれていることが Awad によって報告⁸⁾されており、このエストロゲンが視床下部-下垂体系へ直接作用している可能性も推察される。しかし、今回用いた TJ-78 のエキス末は熱水浸出であるため杏仁の脂溶性のエストロゲンは溶出率の問題から視床下部-下垂体系への直接作用については不明であった。また、血中 P_4 ならびに DHEA-S の値と副腎の湿重量値から副腎性ステロイドの生合成の促進と副腎の湿重量の増加には正の相関があると推察される。以上の結果より麻杏薏甘湯は、更年期時や骨粗鬆症で見られる血中 LH やカルシウム値の増加および血中エストロゲン値の減少に対して有効であることが示唆された。ただし、副腎の活性化によるコルチコイド産生への影響については、今後の研究で明らかにしたい。

薏苡仁湯を投与した TJ-52群は、対照群に対して投与8週の血中 E_1 のみで有意な増加が認められ、血中 P_4 や DHEA-S 値は増加傾向を、血中カルシウム値は減少傾向

向を示した。しかし血中 LH, FSH および E_2 値では差を認めなかったことから、意苡仁湯は副腎でのステロイドの生合成の促進傾向を示し、血中 E_1 値が増加したことはアロマターゼ酵素活性の亢進が示唆された。しかし、麻杏薏甘湯のような視床下部-下垂体系に対する抑制作用は認められなかった。さらに、桂枝茯苓丸加意苡仁を投与した TJ-125 群は、投与 8 週で血中 DHEA-S 値が対照群に比して有意に増加し、血中 E_1 値で増加傾向、血中 LH およびカルシウム値は減少傾向を示した。しかし、血中 FSH, P_4 や E_2 値には差を認めなかったことから、やはり、副腎や視床下部-下垂体系に対する作用は、麻杏薏甘湯ほど強くはないと推察される。

結 語

意苡仁湯、麻杏薏甘湯ならびに桂枝茯苓丸加意苡仁の 3 種類の漢方薬を幼若正常ならびに成熟去勢雌ラットに投与し、その影響を検討した。

幼若雌ラットの腔開口日齢は、麻杏薏甘湯を経口投与した群でのみ有意に腔開口日齢が早まった。これは、副腎性エストロゲンの産生が促進され視床下部-下垂体-性腺系の応答の確立が正常ラットに比して早まったためと推察される。

成熟去勢雌ラットへの作用については、麻杏薏甘湯が副腎でのステロイド生合成を活性化するとともにエストロゲンが増加したことからアロマターゼ酵素活性の亢進作用が示唆された。さらに、血中ゴナドトロピン値に対して抑制作用を示したことから卵巣摘出や閉経期の婦人の更年期障害や骨粗鬆症などに対する改善作用の可能性が推察される。また、副腎の活性化と副腎の湿重量の増加には正の相関があると推察される。なお、今回の研究

では意苡仁湯と桂枝茯苓丸加意苡仁は副腎および視床下部-下垂体系への作用が麻杏薏甘湯ほどではなかった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、試料の御提供を頂いた(株)ツムラに深く感謝致します。また、御指導を頂いた当研究室の坂本忍助教授ならびに研究に御協力頂いた吉村慎太郎大学院生に感謝致します。

文 献

- 1) Kondo, Y., Nakajima, K., Nozoe, S., and Suzuki, S.: Isolation of ovulatory active substances from crops of Job's tears (*Coix lacryma-jobi* L. var. *ma-yuen* STAPF.). *Chem. Pharm. Bull.* **36** (8), 3147-3152, 1988.
- 2) Ed. by Takagi, K., Kimura, M., Harada, M. and Otsuka, Y.: Yokuinin(kakuron). Pharmacology of Medical Herbs in East Asia. [意苡仁(各論). 和漢薬物学] Nanzando Co. (南山堂), Tokyo, pp.101-102, 1982.
- 3) Connerty, H. V. and Briggs, A. R.: Determination of serum calcium by means of o-CPC. *Am. J. Clin. Path.* **45**, 290-296, 1966.
- 4) Sassa, S., Asakai, R., Kumai, A. and Okamoto, R.: Unkei-to no kisoteki jikken (温経湯の基礎的実験). Sanfujinka kampo kenkyu no ayumi 2 (産婦人科漢方研究のあゆみ 2), Shindan to Chiryō sha (診断と治療社), Tokyo, pp.99-104, 1985.
- 5) Okamoto, R.: Shishunki oyobi seishunki no naibunpitsugaku (思春期及び青春期の内分泌学). *Prolactin (PL), Clinical Endocrinology* (ホルモンと臨床) **17** (2), 79-86, 1969.
- 6) Kobayashi, T.: Shishunki no Reproductive Endocrinology (思春期の Reproductive Endocrinology). *Rinsho Kagaku* (臨床科学), **5** (4), 500-509, 1969.
- 7) Döhlar, K. D. and Wuttke, W.: Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin, and gonadal steroids in pre-pubertal male and female rats. *Endocrinol.* **97**, 898-907, 1975.
- 8) Awad, O.: Steroidal estrogens of *Prunus armeniaca* seeds. *Phytochemistry* **13**, 678-679, 1974.