

α -Naphthylisothiocyanate 惹起肝・胆道障害の進行 に対する柴胡桂枝湯と四逆散エキスの抑制効果

太田 好次*, 金剛むつみ, 西田 圭志, 佐々木恵美, 石黒伊三雄

藤田保健衛生大学医学部生化学教室

Preventive effects of Saiko-keishi-to and Shigyaku-san extracts on the progression of hepatobiliary injury induced by α -naphthylisothiocyanate

Yoshiji OHTA*, Mutsumi KONGO, Keiji NISHIDA, Emi SASAKI and Isao ISHIGURO

Department of Biochemistry, School of Medicine, Fujita Health University

(Received January 6, 1997. Accepted April 23, 1997.)

Abstract

We examined the preventive effects of the extracts of Saiko-keishi-to (TJ-10) and Shigyaku-san (TJ-35) on the progression of hepatobiliary injury in male Wistar rats (seven weeks old) with a single intraperitoneal injection of α -naphthylisothiocyanate (ANIT) (75 mg/kg). Hepatocellular and biliary cell injuries were estimated based on the levels of marker enzymes and substances in the serum. Hepatocellular and biliary cell injuries occurred 24 h after ANIT injection and progressed at 48 h. ANIT-injected rats orally received either TJ-10 (0.26, 1.3 or 2.6 g/kg) or TJ-35 (0.15, 0.75 or 1.5 g/kg) 24 h after the injection. TJ-10 had a preventive effect on the progression of hepatocellular and biliary cell injuries found at 48 h after ANIT injection in a dose-dependent manner, while TJ-35 prevented mainly the progression of hepatocellular injury in a dose-dependent manner. In addition, time-dependent increases in serum total cholesterol and lipid peroxide levels were observed in ANIT-injected rats. The oral administration of TJ-35 at 24 h after ANIT injection dose-dependently attenuated increased serum total cholesterol and lipid peroxide levels found at 48 h after the injection. In contrast, the oral administration of TJ-10 dose-dependently attenuated increased serum lipid peroxide level. These results indicate that although orally administered TJ-10 and TJ-35 can prevent the progression of ANIT-induced hepatobiliary injury, there could be a clear difference in the main preventive action on this injury progression between both extracts. The present results suggest that lipid peroxidation may be involved in this ANIT-induced hepatobiliary injury and that TJ-10 and TJ-35 may in part prevent this injury progression through their antioxidative action.

Key words α -naphthylisothiocyanate, hepatobiliary injury (rat), Saiko-keishi-to, Shigyaku-san, lipid peroxide.

緒 言

柴胡桂枝湯は、胆道疾患の治療によく用いられている

漢方薬の一つである¹⁾。柴胡桂枝湯やその漢方薬に含まれている生薬の柴胡、人参、甘草、半夏、黄芩、大棗、芍薬などの煎液は、 α -naphthylisothiocyanate (ANIT) 投与ラットにおける肝・胆道障害の発症を抑制することが

*〒470-11 豊明市沓掛町田楽カ窪1-98
1-98 Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi
470-11, Japan

認められている²⁾。しかし、柴胡桂枝湯がこの実験的肝・胆道障害の進行を抑制するか否かに関しては明らかにされていない。

また、四逆散も胆道疾患の治療に用いられている漢方薬である¹⁾。四逆散がANIT惹起肝・胆道障害の発症を抑制するか否かは明らかにされていないが、この漢方薬に含まれている生薬の柴胡、甘草、芍薬、枳実などの煎液はANIT惹起肝・胆道障害の発症を抑制することが知られている²⁾。しかし、四逆散がこの実験的肝・胆道障害の進行を抑制するか否かに関しては明らかにされていない。

そこで、著者らは柴胡桂枝湯と四逆散のANIT惹起肝・胆道障害の進行に対する抑制効果を明らかにする目的で、ANIT投与ラットにツムラ社製の柴胡桂枝湯エキス剤(TJ-10)と四逆散エキス剤(TJ-35)を肝・胆道障害の発症後に経口投与し、それらの肝・胆道障害の進行に対する抑制効果を調べた。また、ANIT投与ラットでは血清中の総コレステロール(total cholesterol; T-Chol)、中性脂肪、遊離脂肪酸などの脂質成分のレベルは上昇するのに対し、過酸化脂質(lipid peroxide; LPO)レベルは変動せず、しかも柴胡に含まれているサイコサポニンaはANIT投与による血清脂質レベルの上昇を抑制することが報告されている³⁾。更に、ANIT投与ラットの血清LPOレベルは、柴胡桂枝湯やこの漢方薬に含まれている生薬の柴胡、人参、甘草、半夏、黄芩、大棗、芍薬などの煎液の同時投与で、また四逆散に含まれている生薬の柴胡、甘草、芍薬、枳実などの煎液の同時投与で低下することが知られている²⁾。そこで、著者らはANIT投与による血清T-CholとLPOレベルの変動に対するTJ-10とTJ-35経口投与の影響を併せて調べた。

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、オリエンタル固形飼料MF(オリエンタル酵母社製)で1週間飼育した7週齢の雄性Wistar系ラット(体重200g前後)を実験に用いた。

(2) **試薬**：TJ-10とTJ-35は(株)ツムラより供与されたエキス原末を用い、両エキスの収率はともに16%であった。ANITはSigma社製(St. Louis, MO, U.S.A.)を使用した。その他の試薬は市販の特級品を用いた。

(3) **実験方法**：熊沢ら⁴⁾の方法に従い、15時間絶食させたラットにオリーブ油に溶解したANIT(75mg/kg体重)を1回腹腔内投与して肝障害を惹起させた。その対照群には同量のオリーブ油を腹腔内投与した。これら

のラットはANIT投与24時間後と48時間後にエーテル麻酔下で屠殺した。また、TJ-10とTJ-35の投与量は、それぞれの成人の1回投与量(TJ-10は1.3g、TJ-35は0.75g)を基準にして決定された。TJ-10は体重1kg当たり0.26、1.3および2.6gを、またTJ-35は体重1kg当たり0.15、0.75および1.5gを投与し、これらの投与量は成人の体重を60kgとすると、成人の12、60および120倍の投与量に相当した。両エキス剤は蒸留水に懸濁し、それぞれ15時間絶食させたラットにANIT投与24時間後の時点で経口投与した。これらのラットはANIT投与48時間後にエーテル麻酔下で屠殺した。なお、すべてのラットは屠殺前15時間は絶食状態とした。屠殺時に下大静脈より血液を採取し、その血液より分離した血清は種々の生化学的検査に用いた。

肝細胞系障害に関する生化学的検査としてはアラニンアミノトランスフェラーゼ(alanine aminotransferase; ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(asparatate aminotransferase; AST)、乳酸脱水素酵素(lactate dehydrogenase; LDH)などを、また胆道系障害に関する生化学的検査としてはγ-グルタミルトランスぺプチダーゼ(γ-glutamyl transpeptidase; γ-GTP)、アルカリホスファターゼ(alkaline phosphatase; Alp)、総ビリルビン(total bilirubin; T-Bil)、直接ビリルビン(direct bilirubin; D-Bil)、総胆汁酸(total bile acid; T-BA)などを測定した。また、肝障害の検査として、血液T-CholとLPOの測定も行った。これらの測定はすべて市販の測定キットを用いて行った。また、LPOの測定値はマロンジアルデヒド(malondialdehyde; MDA)の量として表わした。

各群の各測定値は平均±SDで表し、また各測定値の各群間での有意差の検定はANOVAを用いて行い、危険率が5%以下を有意とした。

結 果

1. ANIT投与24時間後の血清AST, ALT, LDH, γ-GTPおよびAlp活性

ANIT投与24時間後において、ANIT投与群の血清AST, ALT, LDH, γ-GTPおよびAlp活性はすべて対照群よりも有意に高かった(Table I)。

2. ANIT投与24時間後の血清T-Bil, D-Bil, T-BA, T-CholおよびLPO濃度

ANIT投与24時間後において、ANIT投与群の血清T-Bil, D-Bil, T-BA, T-CholおよびLPO濃度はすべて対照群よりも有意に高かった(Table II)。

3. ANIT投与による血清AST, ALT, LDH, γ-GTP,

Table I Activities of aminotransferase (AST and ALT), lactate dehydrogenase (LDH), γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP), and alkaline phosphatase (Alp) in the serum of rats at 24 h after intraperitoneal α -naphthylisothiocyanate (ANIT) injection.

	AST (IU/l)	ALT (IU/l)	LDH (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	Alp (IU/l)
Control	83 $\pm$ 16	20 $\pm$ 3	604 $\pm$ 225	2.74 $\pm$ 1.03	298 $\pm$ 23
ANIT	310 $\pm$ 92*	134 $\pm$ 30*	1010 $\pm$ 225*	6.77 $\pm$ 0.46*	386 $\pm$ 72*

Each value is a mean $\pm$ S.D. (n=6-10). * p <0.05 (vs. control).Table II Levels of total bilirubin (T-Bil), direct bilirubin (D-Bil), total bile acid (T-BA), total cholesterol (T-Chol), and lipid peroxide (LPO) in the serum of rats 24 h after intraperitoneal α -naphthylisothiocyanate (ANIT) injection.

	T-Bil (mg/dl)	D-Bil (mg/dl)	T-BA (μ mol/l)	T-Chol (mg/dl)	LPO (nmol MDA/ml)
Control (6)	0.10 $\pm$ 0.03	0.02 $\pm$ 0.01	10 $\pm$ 2	61.4 $\pm$ 11.6	5.51 $\pm$ 0.61
ANIT (10)	2.49 $\pm$ 0.56*	2.35 $\pm$ 0.57*	625 $\pm$ 78*	141.7 $\pm$ 18.9*	7.99 $\pm$ 1.54*

Each value is a mean $\pm$ S.D. (n=6-10), * p <0.05 (vs. control).Table III Effects of post-oral administrations of TJ-10 and TJ-35 on activities of aminotransferase (AST and ALT), lactate dehydrogenase (LDH), γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP), and alkaline phosphatase (Alp) in the serum of rats injected intraperitoneally with α -naphthylisothiocyanate (ANIT).

	AST (IU/l)	ALT (IU/l)	LDH (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	Alp (IU/l)
Control	88 $\pm$ 10	21 $\pm$ 5	623 $\pm$ 142	2.40 $\pm$ 0.94	282 $\pm$ 37
TJ-10 (0.26 g/kg)	75 $\pm$ 13	22 $\pm$ 8	666 $\pm$ 125	2.51 $\pm$ 0.13	282 $\pm$ 29
TJ-10 (1.3 g/kg)	79 $\pm$ 10	19 $\pm$ 4	615 $\pm$ 200	2.98 $\pm$ 0.80	293 $\pm$ 43
TJ-10 (2.6 g/kg)	86 $\pm$ 5	17 $\pm$ 3	613 $\pm$ 67	2.51 $\pm$ 0.11	294 $\pm$ 21
TJ-35 (0.15 g/kg)	77 $\pm$ 7	21 $\pm$ 5	605 $\pm$ 97	2.65 $\pm$ 0.10	293 $\pm$ 29
TJ-35 (0.75 g/kg)	79 $\pm$ 9	22 $\pm$ 6	621 $\pm$ 186	2.86 $\pm$ 0.94	288 $\pm$ 44
TJ-35 (1.5 g/kg)	73 $\pm$ 8	20 $\pm$ 2	466 $\pm$ 70	2.61 $\pm$ 0.10	297 $\pm$ 56
ANIT	804 $\pm$ 92*	357 $\pm$ 40*	1172 $\pm$ 192*	9.40 $\pm$ 2.10*	439 $\pm$ 42*
ANIT+TJ-10 (0.26 g/kg)	774 $\pm$ 64*	344 $\pm$ 24*	1060 $\pm$ 160*	8.84 $\pm$ 1.11*	440 $\pm$ 36*
ANIT+TJ-10 (1.3 g/kg)	503 $\pm$ 78*#	231 $\pm$ 45*#	724 $\pm$ 94*#	5.84 $\pm$ 0.87*#	351 $\pm$ 60*#
ANIT+TJ-10 (2.6 g/kg)	407 $\pm$ 53*#	193 $\pm$ 53*#	671 $\pm$ 55*#	5.79 $\pm$ 0.81*#	292 $\pm$ 19*#
ANIT+TJ-35 (0.15 g/kg)	729 $\pm$ 41*	325 $\pm$ 78*	958 $\pm$ 93*	9.70 $\pm$ 1.78*	445 $\pm$ 90*
ANIT+TJ-35 (0.75 g/kg)	534 $\pm$ 99*#	237 $\pm$ 51*#	807 $\pm$ 174*#	8.66 $\pm$ 1.82*	380 $\pm$ 81*
ANIT+TJ-35 (1.5 g/kg)	398 $\pm$ 75*#	197 $\pm$ 35*#	648 $\pm$ 94*#	8.03 $\pm$ 0.93*	376 $\pm$ 29#

Each value is a mean $\pm$ S.D. (n=5-10). * p <0.05 (vs. control) ; # p <0.05 (vs. ANIT).

および Alp 活性の変動に対する TJ-10 と TJ-35 経口投与の影響

ANIT 単独投与群において、投与 48 時間後の血清 AST, ALT, LDH, γ -GTP および Alp 活性は、それぞれ投与 24 時間後の活性の 2.6, 2.7, 1.2, 1.4 および 1.1 倍であった (Table II と III)。ANIT 投与 24 時間後に TJ-

10 を ANIT 投与群に体重 1 kg 当たり 0.26, 1.3 および 2.6 g 経口投与すると、TJ-10 は 1.3 と 2.6 g/kg 体重の投与量において ANIT 投与 48 時間後でみられた血清 AST, ALT, LDH, γ -GTP および Alp の活性上昇をすべて有意に抑制し、しかもそれらの酵素活性の上昇に対する TJ-10 の抑制効果は 1.3 g/kg よりも 2.6 g/kg 体重

Table IV Effects of post-oral administrations of TJ-10 and TJ-35 on levels of total bilirubin (T-Bil), direct bilirubin (D-Bil), total bile acid (T-BA), total cholesterol (T-Chol), and lipid peroxide (LPO) in the serum of rats injected intraperitoneally with α -naphthylisothiocyanate (ANIT).

	T-Bil (mg/dl)	D-Bil (mg/dl)	T-BA (μ mol/l)	T-Chol (mg/dl)	LPO (nmol MDA/ml)
Control	0.10 $\pm$ 0.05	0.04 $\pm$ 0.03	8 $\pm$ 3	58.6 $\pm$ 8.3	5.00 $\pm$ 1.40
TJ-10 (0.26 g/kg)	0.10 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.01	12 $\pm$ 5	57.0 $\pm$ 7.3	4.03 $\pm$ 0.48
TJ-10 (1.3 g/kg)	0.10 $\pm$ 0.04	0.04 $\pm$ 0.02	10 $\pm$ 3	58.3 $\pm$ 5.0	3.86 $\pm$ 0.44
TJ-10 (2.6 g/kg)	0.08 $\pm$ 0.03	0.03 $\pm$ 0.01	6 $\pm$ 1	58.3 $\pm$ 3.5	3.88 $\pm$ 0.50
TJ-35 (0.15 g/kg)	0.08 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01	8 $\pm$ 4	59.5 $\pm$ 7.7	3.67 $\pm$ 0.50
TJ-35 (0.75 g/kg)	0.09 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.03	9 $\pm$ 2	53.4 $\pm$ 5.4	3.76 $\pm$ 0.77
TJ-35 (1.5 g/kg)	0.08 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.01	10 $\pm$ 5	48.0 $\pm$ 5.2	3.39 $\pm$ 0.41
ANIT	9.12 $\pm$ 1.50*	8.13 $\pm$ 1.24*	1201 $\pm$ 59*	231.8 $\pm$ 16.6*	11.22 $\pm$ 1.62*
ANIT+TJ-10 (0.26 g/kg)	8.40 $\pm$ 1.10*	7.18 $\pm$ 0.90*	1066 $\pm$ 90*#	219.6 $\pm$ 22.8*	12.46 $\pm$ 2.62*
ANIT+TJ-10 (1.3 g/kg)	6.21 $\pm$ 0.55*#	5.56 $\pm$ 0.50*#	947 $\pm$ 78*#	234.3 $\pm$ 32.9*	9.15 $\pm$ 0.67*#
ANIT+TJ-10 (2.6 g/kg)	5.82 $\pm$ 0.39*#	5.31 $\pm$ 0.38*#	732 $\pm$ 119*#	200.0 $\pm$ 17.6*#	8.37 $\pm$ 0.83*#
ANIT+TJ-35 (0.15 g/kg)	8.70 $\pm$ 0.68*	7.94 $\pm$ 0.99*	1051 $\pm$ 141*#	211.2 $\pm$ 16.4*#	11.48 $\pm$ 1.64*
ANIT+TJ-35 (0.75 g/kg)	8.38 $\pm$ 1.28*	7.59 $\pm$ 1.14*	1036 $\pm$ 270*#	194.8 $\pm$ 21.5*#	9.23 $\pm$ 1.36*#
ANIT+TJ-35 (1.5 g/kg)	6.99 $\pm$ 0.77*#	6.20 $\pm$ 0.72*#	698 $\pm$ 82*#	170.5 $\pm$ 9.4*#	7.97 $\pm$ 0.64*#

Each value is a mean $\pm$ S.D. (n=5-10). * p <0.05 (vs. control) ; # p <0.05 (vs. ANIT).

の投与量の方が強かった (Table III)。ANIT 投与 24 時間後に TJ-35 を ANIT 投与群に 0.15, 0.75 および 1.5 g 体重経口投与すると, TJ-35 は 0.75 と 1.5 g/kg 体重の投与量において ANIT 投与 48 時間後でみられた血清 AST, ALT および LDH 活性の上昇をすべて有意に抑制し, しかもそれらの酵素活性の上昇に対する TJ-35 の抑制効果は 0.75 g/kg よりも 1.5 g/kg 体重の投与量の方が強かった (Table III)。この TJ-35 併用投与群では, ANIT 投与 48 時間後でみられた血清 γ -GTP の活性上昇はいずれの投与量でも抑制されず, また ANIT 投与 48 時間後でみられた血清 Alp の活性上昇は 1.5 g/kg 体重の投与量において有意に抑制された。また, TJ-10 と TJ-35 単独投与群では, それらのエキス剤のいずれの投与量でもこれらの血清酵素活性に変動は認められなかった (Table III)。

4. ANIT 投与による血清 T-Bil, D-Bil, T-BA, T-Chol および LPO レベルの変動に対する TJ-10 と TJ-35 経口投与の影響

ANIT 単独投与群において, 投与 48 時間後の血清 T-Bil, D-Bil, T-BA, T-Chol および LPO 濃度は, それぞれ投与 24 時間後の濃度の 3.7, 3.5, 1.9, 1.6 および 1.4 倍であった (Table II と IV)。ANIT 投与 24 時間後に TJ-10 を ANIT 投与群に 0.26, 1.3 および 2.6 g/kg 体重経口投与すると, TJ-10 は 1.3 と 2.6 g/kg 体重の投与量において ANIT 投与 48 時間後でみられた血清 T-Bil, D-Bil, T-BA および LPO 濃度の増加をすべて有意に抑

制し, しかもそれらの成分の増量に対する TJ-10 の抑制効果は 1.3 g/kg よりも 2.6 g/kg 体重の投与量の方が強かった (Table IV)。TJ-10 併用投与群では, ANIT 投与 48 時間後でみられた血清 T-Chol 濃度の増加に対する抑制効果は 2.6 g/kg 体重の投与量でみられた (Table IV)。ANIT 投与 24 時間後に TJ-35 を ANIT 投与群に 0.15, 0.75 および 1.5 g/kg 体重を経口投与すると, TJ-35 は 0.75 と 1.5 g/kg 体重の投与量において ANIT 投与 48 時間後でみられた血清 T-BA, T-Chol および LPO 濃度の増加はすべて有意に抑制され, しかもそれらの成分の増量に対する TJ-10 の抑制効果は 0.75 g/kg よりも 1.5 g/kg 体重の投与量の方が強かった (Table IV)。この TJ-35 併用投与群では, ANIT 投与 48 時間後でみられた血清 T-Bil と D-Bil 濃度の増加は 1.5 g/kg の投与量において有意に抑制された (Table IV)。また, TJ-10 と TJ-35 単独投与群では, それらのエキス剤のいずれの投与量でもこれらの成分のレベルに変動は認められなかった (Table IV)。

考 察

ANIT は肝薬物代謝酵素により代謝を受けて活性化物質となり, 肝汁酸の合成, 代謝および輸送を障害して毛細血管の障害, 胆管上皮細胞の壊死, 脱落を起こし, 肝実質細胞内に胆汁うっ滞を惹起することが示されている。^{5,6)} 本研究に用いた ANIT (75 mg/kg 体重) を腹腔

内投与したラットでは、その投与 24 時間後で肝細胞系障害と胆道系障害の発症が認められ、しかも両障害は ANIT 投与 48 時間後において明らかに進行していた。この ANIT 投与ラットにおける肝・胆道障害の発症と進行は、熊沢ら⁴⁾の報告とよく一致していた。熊沢ら⁴⁾は ANIT (75 mg/kg 体重) を腹腔内投与したラットでは、その投与 72 時間後では肝・胆道障害の回復がみられることを報告している。著者らもデータには示していないが、同様な肝・胆道障害の回復を ANIT (75 mg/kg 体重) を腹腔内投与したラットにおいて認めている。これらのことから、本研究に用いた ANIT 投与ラットにおいて、その投与 48 時間後にその投与 24 時間後の時点で投与した薬物の肝・胆道障害の進行に対する影響を調べることができると考えられた。

そこで、著者らは ANIT (75 mg/kg 体重) を腹腔内投与したラットにおいて、その投与 24 時間後の肝・胆道障害の発症が認められた時点で TJ-10 (0.26, 1.3 および 2.6 g/kg 体重) および TJ-35 (0.15, 0.75 および 1.5 g/kg 体重) をそれぞれ経口投与し、両エキス剤の ANIT 惹起肝・胆道障害の進行に対する抑制効果について調べた。その結果、TJ-10 は ANIT 投与ラットの肝細胞系障害と胆道系障害の進行を有意に抑制し、その抑制効果は投与量に依存していることが明らかとなった。また、TJ-35 は ANIT 投与ラットの肝細胞系障害の進行を主に抑制し、その抑制効果は投与量に依存していることが明らかとなった。このように、TJ-10 と TJ-35 は ANIT 惹起肝・胆道障害の進行を異なる作用によって抑制している可能性が示唆された。しかし、TJ-35 はその投与量が 1.5 g/kg 体重の高投与量の場合に、ANIT 惹起胆道系障害の進行に対しても抑制効果を示した。この抑制効果は、四逆散に含まれている生薬の柴胡、甘草、芍薬、枳実などの煎液をそれぞれ ANIT と同時に経口投与したラットでは、肝細胞系障害と胆道系障害の発症に対する抑制効果が認められている²⁾ので、TJ-35 に含まれているこれらの生薬の胆道系障害抑制作用に基づいていると推察される。また、TJ-10 と TJ-35 は、ともに経口投与で ANIT 惹起胆汁うっ滞によっておきる血清 T-BA 濃度の増加を投与量に依存して抑制することが明らかとなった。

また、ANIT (75 mg/kg 体重) を腹腔内投与したラットにおいて、その投与 24 時間後で血清中の T-Chol と LPO 濃度の増加がみられ、これらの増加はその投与 48 時間後では亢進していた。これらの結果は、ANIT 惹起肝・胆道障害に脂質代謝や脂質過酸化の亢進も関与していることを示唆している。山本ら³⁾は、ANIT 含有飼料 (40 mg/kg 体重/日) を 2 日間投与したラットの血清で

は、T-Chol やその他の脂質成分の濃度が増加するのに対し、LPO 濃度には変動がみられないことを報告している。このように、血清 T-Chol の結果は彼等の結果と一致していたが、血清 LPO の結果は彼等の結果とは異なっていた。現在、この相違が何に基づいているかは明らかでない。しかし、この相違は、ANIT の投与方法や投与量が我々と彼等との間で異なっているの、このようなことに基づいているのかもしれない。ANIT 投与 24 時間後での TJ-35 経口投与 (0.15, 0.75 および 1.5 g/kg 体重) は、ANIT 投与 48 時間後における血清 T-Chol と LPO 濃度の増加を投与量に依存して抑制した。それに対し、ANIT 投与 24 時間後での TJ-10 経口投与 (0.26, 1.3 および 2.6 g/kg 体重) は ANIT 投与 48 時間後における血清 LPO 濃度の増加を投与量に依存して抑制したが、血清 T-Chol 濃度の増加を 2.6 g/kg 体重の高投与量でのみ抑制した。このように、ANIT 投与による脂質代謝の亢進に対して、TJ-35 は TJ-10 よりも強い抑制作用を示すことが明らかとなった。また、TJ-10 と TJ-35 は共に抗酸化作用を示すことが知られている⁷⁾ので、両エキス剤は抗酸化作用によって ANIT 投与ラットにおける血清 LPO 濃度の増加の亢進を抑制していることが推察される。

Dahm ら⁸⁾は ANIT 惹起肝・胆道障害に炎症性細胞の一つである好中球の浸潤が関与していることを報告している。TJ-10 には抗炎症作用を示す柴胡⁹⁾、甘草¹⁰⁾、黄芩¹¹⁾などが含まれており、また TJ-35 には抗炎症作用を示す柴胡⁹⁾や甘草¹⁰⁾が含まれている。従って、TJ-10 と TJ-35 の ANIT 惹起肝・胆道障害の進行に対する抑制効果にそれらのエキス剤の抗炎症作用も関与している可能性が考えられる。

以上のことより、TJ-10 は ANIT 惹起肝・胆道障害の進行を肝細胞系障害と胆道系障害の両方に対する抑制作用によって抑制していることが考えられる。また、TJ-35 は ANIT 惹起肝・胆道障害の進行を主に肝細胞系障害に対する抑制作用によって抑制していることが考えられる。また、両エキス剤は ANIT 投与による血清 LPO 濃度の増加の亢進を抑制するので、この作用も ANIT 惹起肝・胆道障害の進行の抑制に関与していることが考えられる。

結 論

ANIT (75 mg/kg 体重) を腹腔内投与したラットに、肝・胆道障害発症後に TJ-10 と TJ-35 を経口投与すると、肝・胆道障害の進行は抑制されることが明らかになった。また、この ANIT 惹起肝・胆道障害の進行に対す

る両エキス剤の抑制作用には相違のあることが示唆された。更に、両エキス剤は ANIT 投与による血清 LPO 濃度の増加を抑制することが明らかとなり、この作用も両エキス剤の ANIT 肝・胆道障害の進行に対する抑制に関与している可能性が考えられた。

References

- 1) Kikutani, T.: The treatment of biliary diseases by ethical Kampo drugs, applied to health insurance system. *J. Trad. Sino-Japanese Med.* **43** (1), 23-27, 1983.
- 2) Yamamoto, M., Uemura, T., Nakama, S., Tanaka, T. and Minamoto, S.: Effects of various Chinese traditional plants on experimental hepatobiliary damage and long term clinical effects of Bupleurum-containing prescriptions in patients with chronic hepatitis. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKU* **2**, 386-397, 1985.
- 3) Yamamoto, M., *et al.*: Experimental and clinical studies of the treatment of chronic hepatitis with Bupleurum falcatum. *Proc. Symp. WAKAN-YAKU* **16**, 245-248, 1983.
- 4) Kumazawa, N., Ohta, S., Tu, S.-H., Kamogawa, A. and Shinoda, M.: Protective effects of various methanol extracts of crude drugs on experimental hepatic injury induced by α -naphthylisothiocyanate in rats. *Yakugaku Zasshi* **111**, 199-204, 1991.
- 5) Fukumoto, Y., *et al.*: Studies of α -naphthylisothiocyanate-induced hepatic disturbance. *Hepato-Gastroenterol.* **27**, 457-464, 1980.
- 6) Kossor, D.C., Meunier, P.C., Handler, J.A., Sozio, R. and Goldstein, R.S.: Temporal relationship of changes in hepatobiliary function and morphology in rats following α -naphthylisothiocyanate (ANIT) administration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **119**, 108-114, 1993.
- 7) Yoshikawa, T., Takahashi, S. and Kondo, M.: Oxygen-derived free radicals and traditional Kampo medicines. *Rec. Adv. Cardiovascul. Dis.* **12** (suppl.), 173-181, 1991.
- 8) Dahm, L.J., Schultze, A.E. and Roth, R.A.: An antibody to neutrophils attenuates α -naphthylisothiocyanate-induced liver injury. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **256**, 412-420, 1991.
- 9) Yamamoto, M., Kumagai, A. and Yamamura, Y.: Structures and actions of saikosaponins 1. Anti-inflammatory action. *Arzneimittelforschung* **25**, 1021-1023, 1975.
- 10) Kumagai, A., *et al.*: Inhibitory effect of glycyrrhizin on anti-granulomatous action of cortisone. *Endocrinology* **74**, 145-148, 1964.
- 11) Kimura, Y. and Okuda, H.: Biochemistry of the roots of *Scutellaria baicalensis*. *J. Trad. Sino-Japanese Med.* **8** (4), 57-63, 1987.