

脾虚証病態モデル動物の研究 (I)

—センナ長期投与ラットの病態学的変化—

馬 永華^{a)} 葉 加南^{a)} 服部 征雄^{a)} 金子 周司^{b)} 野村 靖幸^{b)}
倉茂 洋一^{c)} 若木 邦彦^{c)} 堀越 勇^{d)} 難波 恒雄^{*a)}

^{a)}富山医科薬科大学和漢薬研究所資源開発部門, ^{b)}富山医科薬科大学和漢薬研究所生物試験部門

^{c)}富山医科薬科大学医学部病理学教室, ^{d)}富山医科薬科大学附属病院薬剤部

Studies on "Pi Xu Zheng"-like morbid state in rats (I)

Pathological changes in rats by repeated administration of a senna extract

Yong-Hua MA^{a)} Jia-Nan YIE^{a)} Masao HATTORI^{a)} Shuji KANEKO^{b)} Yasuyuki NOMURA^{b)}
Kunihiko WAKAKI^{c)} Yoichi KURASHIGE^{c)} Isamu HORIKOSHI^{d)} and Tsuneo NAMBA^{*a)}

^{a)}*Department of Development for Natural Drug Resources, Research Institute for Wakan-Yaku (Oriental Medicine), Toyama Medical and Pharmaceutical University*

^{b)}*Department of Pharmacology, Research Institute for Wakan-Yaku, Toyama Medical and Pharmaceutical University*

^{c)}*Department of Pathology, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University*

^{d)}*Department of Hospital Pharmacy, Toyama Medical and Pharmaceutical University*

(Received September 1, 1987. Accepted October 23, 1987.)

Abstract

For the purpose of studying a physically collapsed animal caused by long-lasting diarrhoea as a model of a "Pi Xu Zheng" syndrome in traditional Chinese medicine, an aqueous extract of senna was administered to male rats by intubation feeding (2.0 ml/2 times/day for 7 days and then 3.0 ml/2 times/day from 8th day to 30th day). In the administered group decrease in body weight and increases in body temperature and fecal volume were observed with statistical significance compared with the control group. The relative weights of organs to the body weight decreased in the liver and stomach, and increased in the urogenital organs, brain and adrenal gland ($p < 0.02 \sim 0.01$). The decrease of body weight seems to be due to decreases of fat volume and liver weight. In addition, the rats lay one upon another and were at rest. They showed weak responses in defense and resistance. Their hair fell out in a disorderly manner, their perineal regions became inflamed and both the anus and penis were prolapsed. The numbers of RBC and WBC decreased and A/G value increased significantly ($p < 0.02, 0.01, 0.05$, respectively). As histological changes in the administered group, erosive colitis, mucosal thickening with bifid gland and increased goblet cells were observed in the large intestine, regeneration of tubular epithelia in the kidney, increase of binucleated cells in the liver and thickening of cortex, especially zona fasciculata and reticularis, in the adrenal gland.

Key words animal model, diarrhoea, erosive colitis, morphopharmacology, "Pi Xu Zheng," senna, water extract, weak

Abbreviations W.E.S., water extract of senna, センナ水浸剤; "Pi Xu Zheng," 脾虚証

緒 言

センナはマメ科の *Cassia angustifolia* VAHL (チンネベリー・センナ) または *Cassia acutifolia* DELILE (Leguminosae) (アレキサンドリア・センナ) の小葉を乾燥したものであり¹⁻⁴⁾ 一般的に繁用される緩下薬である。³⁻⁵⁾ その瀉下成分としては sennoside-A, -B, -C, -D が報告され,⁵⁻⁹⁾ それらは腸内細菌により、真の瀉下活性をもつ rheinanthrone に変換され、作用が発現することが明らかにされている。¹⁰⁻¹⁵⁾

最近、中国では、ラットにセンナ水浸剤を大量かつ連続的に投与することにより生じる諸症状が中医学の『脾虚証』症候群と似ているとの観点から、このセンナ投与ラットを『脾虚証』モデル動物と見做し得るのではないかと提案がなされた。¹⁶⁾ しかし、その実験では動物の症状および血液検査の一部のみ調べられているが、病態変化と組織学的研究はまだ充分おこなわれていない。そこで、今回、同方法で『脾虚証』病態モデルラットを作成し、体重、臓器の重量、体温、食餌量および糞量の変化、状態の変化、血液生化学的变化および組織形態学的変化などを対照群と比較検討した。

材料と方法

1. 使用薬物

1 kg のセンナ (インド産の *Cassia angustifolia* VAHL の小葉で、栃本天海堂から入手) に蒸留水 5 l を加え、100℃、30分間抽出、濾過、減圧濃縮し、2 l の水浸剤 (0.5 g/ml) を得た。この水浸剤を 4℃で遮光保存し、実験に用いた。^{1,11)}

このセンナ水浸剤の上清を逆相カラム (ODS-5, 4.6 mm i.d. × 15 cm, Nomura Chem. Co., Ltd.) に

注入し 0.1 M クエン酸バッファー: CH₃CN = 80 : 20 の混合溶媒を移動相として分析した結果、この水浸剤中には sennoside A 0.283 mg/ml, sennoside B 0.867 mg/ml が含まれていた。

2. 実験動物

Wistar 系雄ラット (体重 140–150 g) 21 匹を実験群 12 匹、対照群 9 匹の 2 群に分け、温度 22 ± 1℃、湿度 50–60%、12 時間明/12 時間暗のサイクルの飼育室で市販の固形飼料 (三協ラボサービス, MM-3) を用い、水は自由に摂取させ飼育した。

3. 実験方法

1) 投与: 胃ゾンデを用いて 1 日 2 回、各 2.0 ml の割合で 7 日間ラットに強制的に経口投与し、その後は 1 日 2 回、各 3.0 ml の割合で 23 日間投与した。対照群には蒸留水を同様に経口投与した。実験開始 30 日目に屠殺し組織学的検討をおこなった (Fig. 1)。

2) 実験視察:

(1) 体重、摂食量、体温、糞量の測定: 毎日センナ水浸剤の投与前に測定した。¹²⁾ ① 体重: 1 匹ずつ体重を計測した。② 摂食量: 定量飼育を行い、各餌籠中に残った餌の量を計り、摂食量を算出した。③ 体温: TERUMO・電子体温計 (FA28, 全自動) を用い肛門内 2.5 cm の深さで 1 分間測定した。④ 糞量: 糞とケージの重量を一緒に計った後、ケージの風袋を差引き糞量を算出した。

(2) 状態観察: 毎日センナ水浸剤の投与前、各状態を下記項目ごとに 3–5 級に分けて観察した。① 動作 (活発, 中等, 静止の 3 級) ② 居住状態 (1 匹ずつ別々に, 2 匹一緒に, 3 匹一緒にの 3 級) ③ 毛の状態 (すべすべしている, 中等, 乱雑に立って汚れが目立つの 3 級) ④ 防衛反応 (掴まえる前に逃げる, 掴まれてから逃げる, 掴まれても逃げずの 3 級) ⑤ 反抗性 (掴んだヒトの手に噛みつく, 四肢だけ動かす, 無抵抗の 3 級) ⑥ 糞の性状 (硬い糞, 軟便,

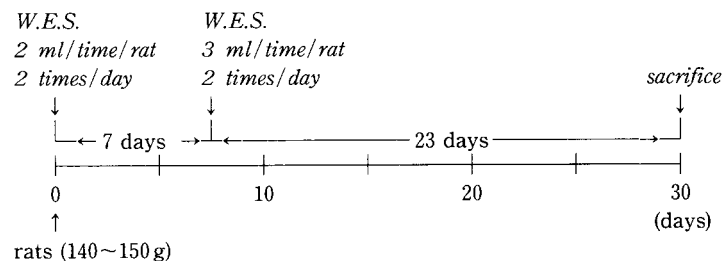


Fig. 1 Intubation feeding of a water extract of senna.

粘血便の3級) ⑦肛門部の糞跡(無, 乾燥糞跡, 湿糞跡の3級) ⑧陰部の状態(正常, 皮膚が赤い, 炎症性浮腫, 脱肛, 陰茎脱垂の5級)。

(3)血液学的検査: 左眼窩静脈叢から 0.7 ml の血液を採集し,¹⁷⁾ 赤血球数(RBC), 白血球数(WBC), 血色素(Hb), ヘマトクリット(Ht), 血小板数, 桿状核球, 分節核球, 好酸球, リンパ球, 単球, 網状赤血球, 全血比重, A/G, Albumin, α_1 -globulin, α_2 -globulin, β -globulin, γ -globulin を検査した。

(4)臓器の摘出と重量測定: 実験30日目に 4℃の低温でラットの頸部を切断, 脱血した後, 各臓器を摘出した。摘出した臓器は, 速やかにその周囲の結合組織, 脂肪組織を取り除き, 重量を測定した。また, 体重100 g 当たりの臓器比重量を求めた。^{18,19)}

(5)形態学的観察: ①肉眼的観察: 主に腹腔内の諸臓器を肉眼的に観察した。②組織標本の作成と観察: 摘出した大腸, 肝臓, 腎臓, 副腎を直ちに 4 × 4 × 2 mm の組織片にし, 15%中性緩衝ホルマリンで固定, パラフィン包埋後 6 μ m の切片を作成し, ヘマトキシリン・エオジン染色をして, 光学顕微鏡鏡下で形態学的変化を観察した。③大腸粘膜の厚さの測定: 大腸粘膜ヒダの頂部にある陰窩が規則的に並ぶところで粘膜の表面から陰窩の基底部までの厚さを 1 匹あたり 10 箇所ずつ計り平均値を算出した。²⁰⁾

4. 測定値の *t* 検定

測定して得たデータの平均値と標準偏差を求め, *t* 検定により対照群と実験群との間における有意差を検定した。

結 果

1. 体重

センナ水浸剤投与 3 日後から投与群での体重増加は抑制され, 全過程を通じて両群間には $p < 0.001$ の体重の有意差が認められた (Fig. 2-A)。

2. 体温

投与 7 日目より体温の測定を開始したが, 投与群の体温は対照群より約 0.1~1.0℃ 高く, $p < 0.05 \sim 0.001$ の有意差がみられた (Fig. 2-B)。

3. 摂食量

対照群では全過程で毎日ほぼ一定の摂食量があったが, 投与群では 4 日後から摂食量の減少が認められた。4 日目では初回摂食量の約 30% 減, 17 日目では約 50% 減, 26 日目では約 60% 減で対照群に比べて $p < 0.01 \sim 0.001$ の有意差が認められた (Fig. 2-C)。

4. 糞量

対照群に比し投与群の糞量は投与 2 日後から増加した。7 日目~24 日目までの間では投与群の糞量は対照群より多く, 有意差が認められた ($p < 0.05 \sim 0.001$)。しかし, 25 日目以降有意差は認められなくなった (Fig. 2-D)。

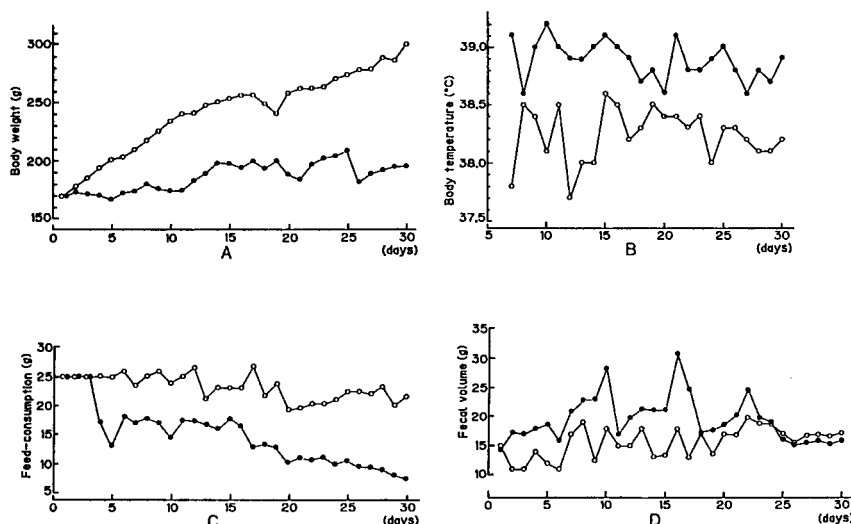


Fig. 2 Daily changes in body weight, body temperature, feed-consumption and fecal volume between control (○—○) and administered (●—●) groups.

A. Change in body weight, B. Change in body temperature, C. Change in feed-consumption, D. Change in fecal volume.

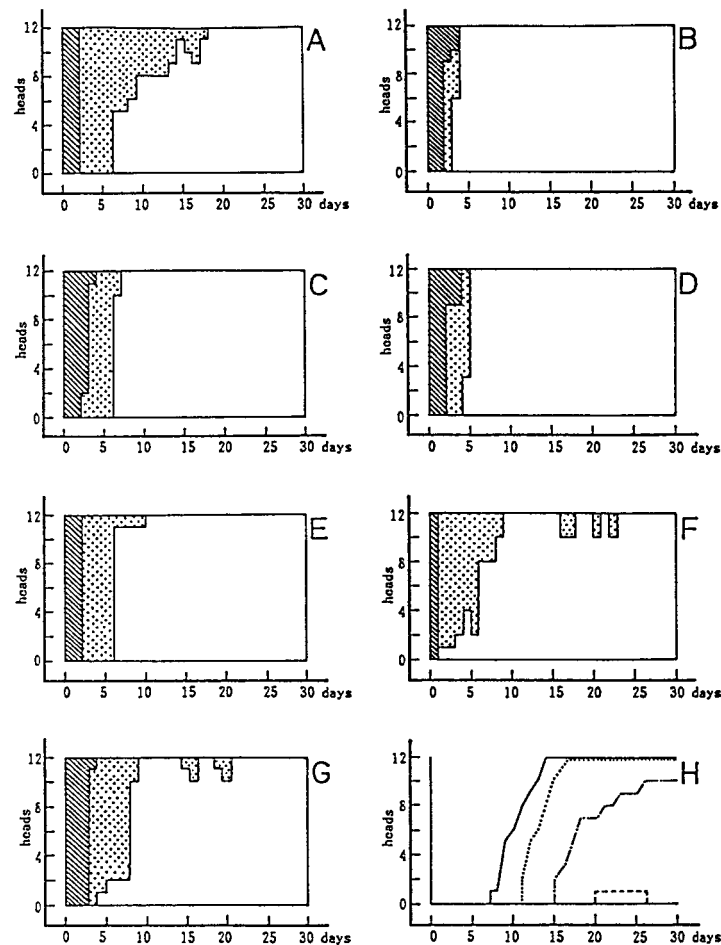


Fig. 3 Daily changes in the state of administered group.

- A. Movement ; ■ : quick in movement, □ : slow in movement, □ : stand still.
 B. State of residing ; ■ : residing separately, □ : close together, □ : one above the other.
 C. Hair condition ; ■ : glossy, □ : medium, □ : rough and muddy.
 D. Defense to the capturing action ; ■ : quick escape, □ : slow escape, □ : no escape.
 E. Resistance to an assault ; ■ : bit the assaulter, □ : moved a few steps, □ : no resistance at all.
 F. Fecal condition ; ■ : normal feces, □ : soft feces, □ : diarrhoeal feces.
 G. Fecal trace around the anus ; ■ : clean, □ : dry fecal trace, □ : wet fecal trace.
 H. Cutaneous condition around the anus ; — : red, : inflammation, - - - : prolapsed anus, ---- : prolapsed penis.

5. 状態の観察

1) 状態の変化

①動作：投与群では実験開始3日目からすべて不活発となり，7日目では42%は静止状態となり，投与日数が経つにしたがって，すべてが静止状態となっていた (Fig. 3-A)。一方，対照群は実験期間中活発に動き回っていた。

②居住状態：投与前，ラットは各自独立して横に

なって休んでいたが，投与群では実験開始3日後から75%が毛を逆立てて集合し，5日目ではすべてが常に重なり合って群居していた (Fig. 3-B, 4-C)。一方，対照群は実験期間中独立して自由に動いたり横になって休んでいた (Fig. 4-A)。

③毛の状態：投与前，ラットの毛は非常にすべすべして滑らかであったが，投与4日後から，毛の滑らかさがなくなり，投与8日後では毛が逆立ち乱雑

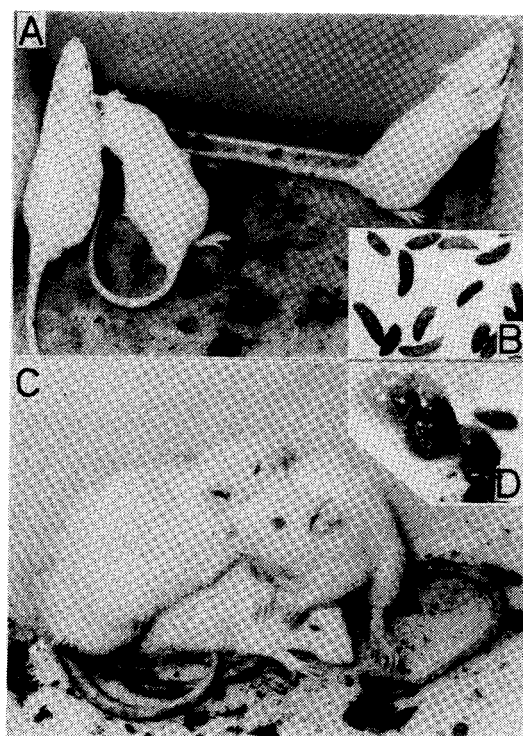


Fig. 4 Residing and fecal condition in the control (above) and administered (below) groups.
A. Residing separately, B. Normal feces, C. One above the other, D. Diarrhoeal feces.

になり、汚れが目立ってきた (Fig. 3-C, 4-C)。投与14日後には10%のラットに背中脱毛 ($1.0 \times 2.0 \sim 1.5 \times 2.0 \text{ cm}^2$) が認められ、投与20日後には脱毛のラット数は約30%に達した。脱毛したラットは投与30日目になっても毛が再生しなかった。一方、対照群では毛がすべすべして滑らかな状態を保持していた。(Fig. 4-A)。

④防衛および抵抗反応：投与前、ケージの蓋を開けると、ラットはすぐ奥に逃げ、掴まえようとする、手にかみついたり、強く抵抗した。しかし、投与群では実験3日後になると75%のラットは蓋が開けられても逃げず、研究者の手がラットの体に接触して初めて、やや後退し、掴まえられた時に足を動かすだけとなった。投与1週間後には投与群ラットの91%は元気がなく、無抵抗となった (Fig. 3-D, E)。一方、対照群は実験期間中強い防衛および抵抗反応を示した。

⑤糞の性状：投与群の糞は投与2日後から柔らかくなり、投与4日後では粘液便や血便になった (Fig. 3-F, 4-D)。一方、対照群では糞に異常を認めなかった (Fig. 4-B)。

⑥会陰部皮膚の状態：投与前清潔だった会陰部の皮膚は投与3日後から、肛門周辺の皮膚に乾燥した糞跡が出現した。投与6日後では、下痢が頻繁となり、湿気の多い糞跡が現われ、尾の皮膚に乾燥および湿気の多い糞跡がみられた。投与7日目から、会陰部の皮膚がやや充血して赤くなり、11～12日目からラットの50%は会陰部の皮膚が赤くなったほか皮膚炎、浮腫が現われ始め、2週間頃からは、陰囊皮膚も紅く腫脹、軽度潰瘍化し、下垂して脱肛も出現した。ラットは歩行時、地面（ケージの底）を触れないように尻をあげた特異な姿勢をとった。1匹のラットは陰茎も脱垂した (Fig. 3-G, H)。一方、対照群では会陰部に異常を認めなかった。

⑦耳と眼の色調の変化：実験の最終日には投与群の50%のラットの耳と眼の赤い色が対照群より顕著に薄くなっていた (Table I)。

2) 便潜血反応：投与群では実験7日目に、ラット肛門内から大便を採集し、潜血反応を行なったところ、50%のラットで便潜血が(+++)になった。投与12日目では、すべてのラットで便潜血が陽性になり、以後最終日まで陽性であった。一方、対照群では便潜血は陰性であった。

Table I Shade of colour of eyes and ears in control and administered groups on the last experimental day.

	eyes			ears		
	dark red	red	light red	red	light red	pale
Control group (n=9)	8	1	0	8	1	0
Administered group (n=21)	10	8	3	9	8	4

Annotation : Data — showing the heads of rats.

Table II Blood and serological examinations.
A. Blood cell counts.

	Control group	Administered group
Red blood cells ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	837.66 $\pm$ 16.65	939.00 $\pm$ 26.57** ※
White blood corpuscles ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	1.288 $\pm$ 0.09	1.665 $\pm$ 0.12***
Hemoglobin (g%)	15.52 $\pm$ 0.32	16.54 $\pm$ 0.53
Hematocrit (%)	46.73 $\pm$ 0.90	49.47 $\pm$ 1.40*
Blood platelets ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	126.88 $\pm$ 11.56	146.72 $\pm$ 23.29
Neutrophile leucocytes (%)	21.50 $\pm$ 3.51	42.85 $\pm$ 3.02***
Eosinophile leucocytes (%)	0.33 $\pm$ 0.33	0.71 $\pm$ 0.17
Lymphocytes (%)	73.66 $\pm$ 3.77	52.28 $\pm$ 2.92***
Monocytes (%)	4.50 $\pm$ 0.55	4.28 $\pm$ 0.46
Reticulocyte (%)	64.33 $\pm$ 5.41	58.28 $\pm$ 1.73

B. Cell counts of neutrophile leucocytes (%).

	Control group	Administered group
Stab form leucocytes	1.5 $\pm$ 0.22	2.42 $\pm$ 0.29*
Segmented leucocytes	20.00 $\pm$ 3.65	40.42 $\pm$ 2.98***
2 segments	10.0 $\pm$ 1.26	15.85 $\pm$ 1.93*
3 segments	7.50 $\pm$ 1.52	17.00 $\pm$ 1.26***
4 segments	1.83 $\pm$ 0.90	8.28 $\pm$ 1.18***

C. Specific gravity of blood and graduated protein of serum (%).

	Control group	Administered group
Specific gravity of blood	1.0606 $\pm$ 0.0003	1.0605 $\pm$ 0.0001
Albumin/Globulin	2.39 $\pm$ 0.07	2.16 $\pm$ 0.06*
Albumin	70.43 $\pm$ 0.67	68.75 $\pm$ 0.74 [#]
α_1 -globulin	12.61 $\pm$ 2.64	12.08 $\pm$ 2.33
α_2 -globulin	15.45 $\pm$ 2.08	14.79 $\pm$ 2.43
β -globulin	1.42 $\pm$ 0.93	3.92 $\pm$ 1.56
γ -globulin	0	(5.30) ^{a)}

*Data : mean $\pm$ S.E., * p <0.05, ** : p <0.02, *** : p <0.01, # : 0.1< p <0.5.

^{a)}Observed in one sample only.

3) 血液生化学的検査：実験17日目に血液学的検査を行ったが、その結果は Table II に示した。末梢血の赤血球数、白血球数、および Ht 値は、投与群では対照群より増加し、リンパ球は対照群より減少しており、各々有意の差 (p <0.05~0.01) が認められた (Table II-A)。白血球の各分節核球数は投与群では対照群より有意に増加し (p <0.05~0.001)。その核型移動は対照群よりやや左方に移動していた (Table II-B)。生化学的検査では、A/G 比は投与群では対照群より有意に減少し (p <0.05), albumin は対照群よりやや減少しているが、有意差は認められなかった (Table II-C)。

6. 臓器重量

1) 臓器重量：投与群の副腎重量 (0.064 $\pm$ 0.014) は対照群 (0.044 $\pm$ 0.007) より有意に重い (p <0.02), 胃、大腸、腎、脳、睪丸、胸腺、顎下腺では有意差が認められなかった。一方、肝臓 (投与群

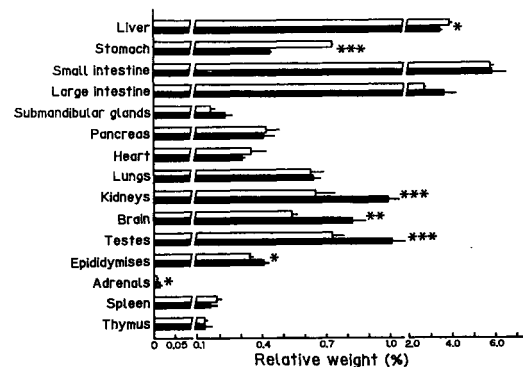


Fig. 5 The relative weights of organs to the body weight in control (□) and administered (■) groups (%).

①Data : (organ weight/body weight) $\times$ 100,

②* : p <0.05, ** : p <0.01, *** p <0.001.

Table III Adipose tissue in control and administered groups.

	Weight of adipose tissue (g)			Thickness of the panniculus adiposus of the abdominal wall (mm)
	spermatic funicules	mesocolon	adipose capsules of both kidneys	
Control group	1.66±0.06 ¹⁾	1.42±0.10	1.85±0.12	2.66±0.20
Administered group	1.47±0.01*	1.13±0.05*	1.57±0.03	1.00±0.51**

1) Percentage of adipose tissue weight to the body weight.

The values are represented by mean±S.E., *: $p<0.05$, **: $p<0.02$.

6.74±0.83, 対照群 11.97±1.53), 小腸, 脾臓, 心臓, 肺臓, 副睪丸, 脾臓の重量は対照群より軽くなっていた ($p<0.05\sim0.001$).

2) 諸臓器の比重量 (体重に対する%, Fig. 5):

①肝臓, 胃の比重量は投与群では対照群より有意に少なくなった ($p<0.05\sim0.001$). ②腎臓, 睪丸, 副睪丸, 副腎, 脳の比重量は投与群では対照群より有意に多くなった ($p<0.02\sim0.001$). ③小腸, 大腸, 唾液腺, 脾臓, 心臓, 肺臓, 脾臓, 胸腺の比重量は投与群では対照群と比べて有意差はなかった。

7. 形態学的観察

1) 肉眼的所見: 投与群では, 胃, 小腸が著明に膨満しているほかは他の諸臓器に異常は認められなかった。腹壁の皮下脂肪の厚さは, 投与群では対照群より有意に減少していた ($p<0.02$)。そして精索および腸間膜の脂肪の比重量は対照群より有意に少ない ($p<0.05$) が腎臓被膜の脂肪の比重量は両群間で有意差がなかった (Table III)。

2) 大腸粘膜の組織学的所見: 対照群の大腸粘膜には異常を認めなかったが, 投与群の大腸粘膜の厚

さは対照群より有意に厚く ($p<0.001$), 大腸腺は過形成性で二叉の陰窩がしばしば見られた。また陰窩上皮の大部分と杯細胞となり, 細胞質内に粘液蛋白を満していた (Fig. 6, 7-B)。そしてすべての投与群の大腸粘膜にびらんを認め, 間質の充血や好中球及びリンパ球の浸潤が認められた (Fig. 7-A, C, D)。

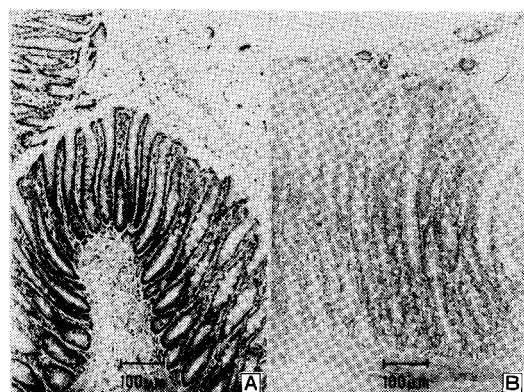


Fig. 6 Marked mucosal thickening of the large intestine in the administered group (B) compared to that of the control group (A).

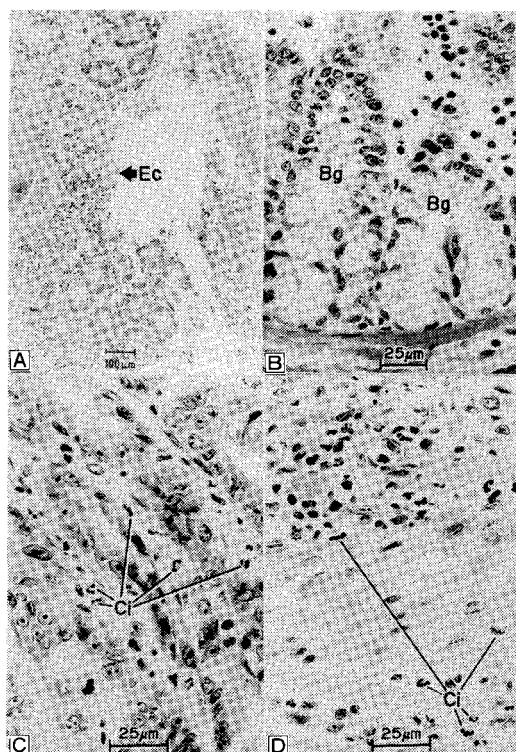


Fig. 7 Histological changes of the large intestine in the administered group.

A. Erosive colitis (Ec), B. Bifid glands in the mucosa (Bg), C. Cellular infiltration of neutrophilic leucocytes in the mucosa (Ci), D. Cellular infiltration of neutrophilic leucocytes in the lamina muscularis mucosae (Ci).

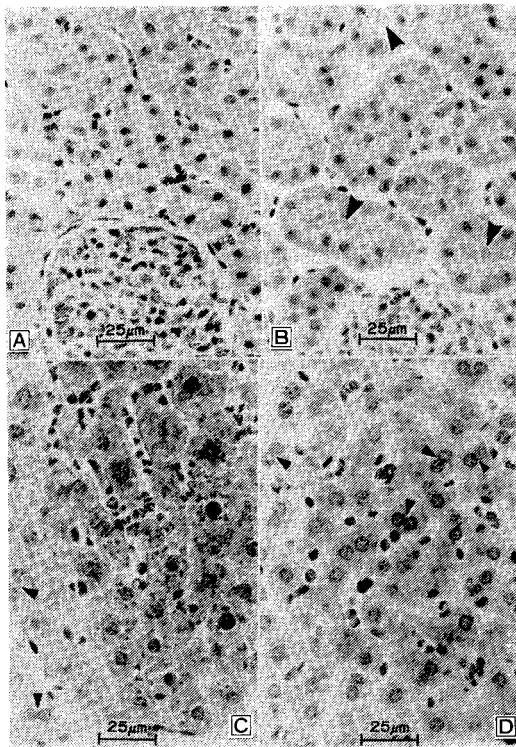


Fig. 8 Histological changes of the kidney (above) and the liver (below) in the control (A, C) and administered (B, D) groups. (◄): exfoliated cells in renal tubules (B), (◄): bi-nucleated hepatic cells (C, D).

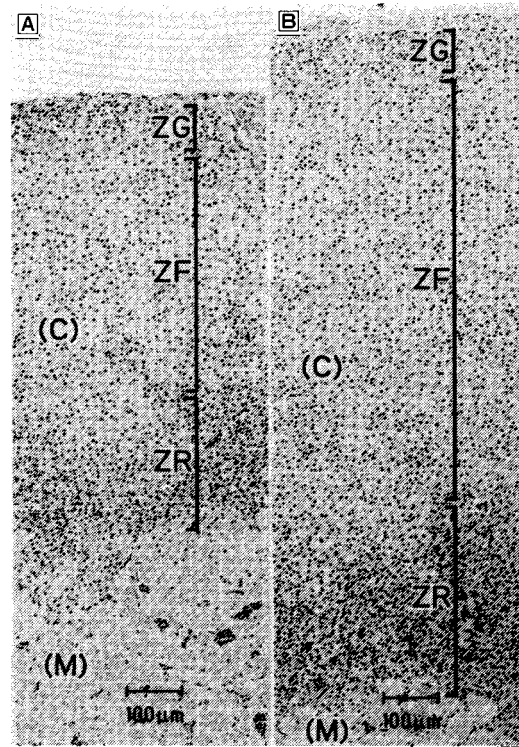


Fig. 9 Histological changes of the adrenal gland in the control (A) and administered (B) groups. (C): cortex, (M): medulla, ZG: zona glomerulosa, ZF: zona fasciculata, ZR: zona reticularis.

Table IV Thickness of adrenal cortices in control and administered groups (10 μm).

	Cortex	Zona glomerulosa	Zona fasciculata	Zona reticularis	½ Medulla	Cortex/½ Medulla
Control group	77.00±1.19	4.49±0.17	56.08±1.76	18.16±0.45	53.44±8.37	1.69±0.37
Administered group	104.79±3.67***	4.79±0.26	73.06±2.37**	25.66±1.50**	41.89±11.25	3.39±0.44

Annotation: Data: mean±S.E., *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$.

3) 腎臓の組織学的所見: 腎糸球体の異常は両群で認められなかったが, 対照群に比し投与群の尿細管腔内には大量の剥離した上皮細胞の断片を認め, 尿細管上皮細胞の再生像がみられた。(Fig. 8-A, B).

4) 肝臓の形態学的所見: 肝小葉内における肝細胞索, 類洞, 中心静脈及び肝小葉の間におけるグリソン鞘などには両群間で異常は認められなかった。しかし, 二核性肝細胞の数は, 対照群では

15.15%±1.02であるのに比し, 投与群では24.33%±2.57と多く, 有意差 ($p < 0.02$) が認められた (Fig. 8-C, D)。

5) 副腎の組織学的所見: 投与群では副腎皮質, 特に束状層, 網状層の厚さが対照群に比して, 有意に厚く ($p < 0.001 \sim 0.01$), 皮質: 1/2 髄質の比は投与群で対照群より有意に大きかった ($p < 0.05$, Fig. 9, Table IV)。

考 察

中国ではセンナの瀉下作用を利用して、虚弱動物モデルを作成し^{16,21)} 中医学における『脾虚証』との関連性が調べられている。今回、著者らは同様の方法で『脾虚証』モデルラットを作成しその病態変化²²⁾ について更に詳しく検討した。

1. 体重、臓器重量、体温、食餌量および糞量の変化

センナ葉水浸剤をラットへ経口的に連続投与し、その影響を調べた結果、投与2日目から糞量が増加し、また投与群の食餌量は4日目から実験の最終日まで対照群より有意に減少していた ($p < 0.01 \sim 0.001$, Fig. 2)。食餌量の減少、頻回の下痢、小腸の運動抑制に伴う内容物の吸収抑制の結果²³⁾ 生体の栄養状態はさらに悪くなり、体内代謝により、先ず脂肪が消耗される。すなわち投与群では腹壁の皮下脂肪の厚さは対照群より有意に薄くなり ($p < 0.02$)、腹腔内における精索周囲および腸間膜の脂肪の比重量も対照群より有意に減少していた ($p < 0.05$)。一方腎被膜の重量も投与群では対照群より有意に減少していた ($p < 0.001$) が、比重量では対照群に比べて有意差がなかった (Table III)。投与群の体重は対照群より有意に軽くなった ($p < 0.001$, Fig. 2-A)。

投与群の臓器の重量は肝臓、小腸、脾臓、心臓、肺臓、副睾丸、脾臓で対照群より軽くなっていたが、副腎では有意に増加していた ($p < 0.05 \sim 0.001$)。比重量は肝臓および胃では対照群より少なく ($p < 0.05 \sim 0.001$)、腎臓、睾丸、副睾丸、副腎、脳では対照群より有意に多くなっていた ($p < 0.05 \sim 0.001$)。以上のことからセンナが引き起こした体重の減少は主に脂肪の減少と副腎を除く肝臓や他の臓器重量が減少したためと考えられる。

投与群では体温は上昇し、実験最終日まで対照群より有意に高かった (Fig. 2-B)。これは下痢による脱水および体内の水と電解質のアンバランス以外に、組織学的にみられた大腸炎および血液学的に白血球増加が見られることから、細菌からの LPS (リポポリサッカライド) のような外因性の pyrogen により白血球から内因性の pyrogen が放出され、これが視床前野・前視床下部の体温調節機構に影響を及ぼして体温が上昇したものと思われる。²⁴⁾

糞便の量は下痢および食餌量と密接に関連し、初めは軟糞で、ついで粘液血糞になり、その中に大量の水分、粘液および血液を含んで、その重量を増

加させたものとおもわれる (Fig. 2-D, 4-D)。投与群では対照群の糞量に比べて、有意に多いが ($p < 0.05 \sim 0.001$)、25日目から食餌量が減少するにつれ糞量も減少し、両群間に有意差が認められなくなった (Fig. 2-C, D)。

2. 状態の変化

投与群では下痢の持続、食餌量の低下、体重減少に伴い、いろいろな症状が出現した。¹⁶⁾

行動は、投与1週で不活発となり、外からの各種刺激に対する応答性が低下し、静止状態となった。下痢および栄養吸収障害により体内に貯蔵しているカロリーの供給不足による体温保持のため皮膚の立毛筋を収縮させ毛を逆立てて、互いに重なりあって群居するようになった (Fig. 3-A, B, C, 4)。

投与前、ラットは外的各種有害因子に抵抗する力が強く、応答も速く、掴まれても全力で手に噛みついて抵抗するが、投与2～3日後には、抵抗力が低下した。1週後では全く逃げなくなり無抵抗となった。

肛門周囲の糞跡、皮膚紅腫、炎症所見などは繰り返し下痢をおこした結果であり、尻尾にも糞跡を多数つけているのはラットが衰弱して自分で奇麗にする力 (grooming) がなくなったからと考えられる。

実験最終日には投与群の50%のラットで、その耳と眼の赤い色が対照群のそれより薄くなっていたが (Table I)、これは循環血液量の減少による血管床の減少によると判断される。このことは中医学での面色萎黄という症状によく似ている。

3. 血液生化学的变化

1) 血液像の変化：末梢血の赤血球数は投与群では対照群より有意に増加していた ($p < 0.02$)。これはヘマトクリット値が上昇していることと考え合わせ、下痢による脱水のために血液が濃縮されて、赤血球数が相対的に増加したものと推定される。²⁵⁾ 白血球数は投与群では対照群より有意に増加していた ($p < 0.01$)。好中球の分節核球の分布曲線は両群ともに正常曲線の枠内に属するが、投与群の各分節核球の数はすべて対照群より有意に増加しており ($p < 0.05 \sim 0.001$)、投与群の分布曲線は対照群よりやや左に偏っていた。²⁶⁾ これは、投与後下痢によって引き起こされたびらん性大腸炎および肛門周囲の炎症により、白血球数、主に好中球数が増加したものと考えられる。一方、リンパ球の減少は慢性下痢による免疫機能低下に関連していると思われる。^{25,27)} 好酸球、単球には変化がなく、血色素、血小板数、網状赤血球などにも両群間に有意差は認められなかった。

2) 血液の生化学的所見: A/G 比は、投与群では対照群より有意に低下した ($p < 0.05$)。これは前記投与群の炎症所見, および食餌量の減少と吸収障害による肝臓でのタンパク質合成の低下などに関連しているものと考えられる。²⁸⁾

4. 組織学的変化

1) 大腸: 投与群ラットでは大腸粘膜上皮のびらん欠損, 間質への好中球, リンパ球, 貪食細胞などの細胞浸潤および充血がみられ, この変化はびらん性大腸炎の所見であった。²⁹⁻³¹⁾ 大腸腺は陰窩が深くなり ($p < 0.001$, Fig. 7), 二叉の陰窩も見られた。³²⁾ 粘膜腺陰窩の上皮細胞の約60%は細胞質内に粘液蛋白を含む杯細胞になっており (Fig. 6), 大量の粘液を分泌して, 腸粘膜の保護作用をしているものと考えられる。これらの病変は血便および粘液便に関連しているものと思われる。³³⁻³⁵⁾

2) 腎臓: 投与群の腎臓の組織学的変化は主に近位尿細管の上皮細胞の剥離, 再生像である (Fig. 8-B)。これは腎の比重量増加と考えると, 長期の下痢により近位尿細管上皮の変性壊死が主に起こっていたことが推測された。

3) 肝臓: 肝臓の再生能力は強いので,^{36,37)} 投与群肝臓の組織学的変化はあまり顕著に起らなかった。ただ投与群では二核肝細胞の数が有意に増加していたことは, 肝臓の重量および比重量が減少したことを考え合わせ, 下痢後の損傷に対する肝臓の再生力促進を意味するものと思われる。しかしセンナ自身の作用とも考えられるので³⁸⁾ さらに検討する必要がある。

4) 副腎: 投与群の副腎は重量, 比重量ともに増加し, 組織学的には副腎皮質, 特に束状層および網状層の厚さが対照群より増加していた ($p < 0.001 \sim 0.01$)。これらの点は長期の下痢に対してグルココルチコイドを分泌する束状層の反応性肥大と考えられるが,³⁹⁻⁴¹⁾ 網状層の厚さの増加は睾丸比重量の増加と関連して興味がある。

以上, 本実験では, センナ水浸剤をラットに比較的大量かつ連続的に投与することにより生ずる諸変化を調べたが, これらラットにみられる諸症状は, 中医学 (漢方医学) で用いられる『脾虚証』の諸症状と一部類似していると考えられる。しかしながら中医学の『脾虚証』の判断基準としては①大便溏泄, ②食後腹脹, 喜按, ③面色萎黄, ④食欲減退, ⑤肌 (筋) 瘦無力, その中の3項を具備するものと述べられているが,⁴²⁾ 『脾虚証』の現代科学的解析がいまだ充分になされていない現状ではこのように作成した病態動物が『脾虚証』モデルとしてふさわし

いものであるかはまだ速断はできない。いずれにしても『脾虚証』モデル動物の作成は中医学 (漢方医学) の理解と今後の発展のためにも急務とされる。今回のセンナ投与による衰弱ラットの病態学的変化の解析は同モデル作成上の有益な知見となる。

結 論

①センナ水浸剤をラットに投与し, 下痢による虚弱動物モデルを作成し, 形態薬理学的研究を行なった。

②対照群に比べて, 投与群では有意に体重増加の抑制, 体温の上昇, 糞量の増加が認められた。

③投与群では副腎の重量が有意に増加し ($p < 0.02$), 臓器の比重量は, 肝臓, 胃で減少し, 泌尿生殖器系臓器および脳, 副腎で有意に増加し ($p < 0.02 \sim 0.001$), その他の臓器では変化は認められなかった。センナで誘発された体重減少は主に体内脂肪の減少によるもので, それに伴い一部臓器の比重量の増減がみられた。

④投与群ラットの活動は静止し, 重なり合って群居し, 防衛能および抵抗力は弱くなった。毛は乱雑となり脱毛を認め, 肛門皮膚は炎症性となり, 肛門の脱出や陰茎の脱垂などが観察された。

⑤投与群では赤血球数, 白血球数と好中球数は有意に増加し ($p < 0.02 \sim 0.01$), A/G 比は有意に低下した ($p < 0.05$)。

⑥組織学的所見では, 投与群の大腸粘膜のびらん欠損と間質に好中球, リンパ球, 貪食細胞などの炎症性細胞浸潤を認め, びらん性大腸炎といえる。大腸粘膜は過形成性で ($p < 0.001$), 大腸腺は二叉の陰窩を伴い陰窩の上皮細胞の60%以上は杯細胞になっていた。

投与群では主に腎臓の近位尿細管の上皮細胞の剥離・再生像が認められた。

また, 肝臓では二核肝細胞数の有意な増加 ($p < 0.02$) が認められた。

なお, 副腎皮質, 特に束状層および網状層の厚さの増加が認められた。

文 献

- 1) 江蘇新医学院: “中薬大辞典,” 上海科学技術出版社, 中国上海, pp. 2409-2410, 1977
- 2) “日本薬局方 (第十改正)” (日本公定書協会監修), 広川書店, 東京, p. 1072, 1981
- 3) “日本薬局方 (第八改正, 第一部解説書)” (日本公定書協会監修), 広川書店, 東京, pp. C-1049-C-1052, 1971

- 4) 難波恒雄: “原色和漢薬図鑑 (下),” 保育社, 大阪, pp. 96-97, 1981
- 5) 葉 橘泉: “現代実用中薬,” 上海衛生出版社, 中国上海, p. 355, 1956
- 6) Stoll A., Becker, B. and Kussmaul, W.: Die Isolierung der anthraglykoside aus sennadrogen. *Helv. Chimica Acta* **32**, 1892-1903, 1949
- 7) Schmidt, W. and Anliker, E.: Sennosid C, ein neues Glucosid aus *Cassia angustifolia* (Senna). *Helv. Chimica Acta* **48**, 1911-1921, 1965
- 8) Anton, R. and Duquenois, P.: Use of thin-layer chromatography for the characterization of various anthracene derivatives in species of the genus *Cassia* and for species identification. *Ann. Pharm. Fr.* **25** (9-10), 589-599, 1967
- 9) Lemli, J. and Cuveele, J.: Anthraquinone drugs. XIX. Determination of sennosides C and D. *Pharm. Acta Helv.* **43** (10), 689-692, 1968
- 10) Dressen, M., Eyssen, H. and Lemli, J.: The metabolism of sennosides A and B by the intestinal microflora: *in vitro* and *in vivo* studies on the rat and the mouse. *J. Pharm. Pharmacol.* **33**, 679-681, 1981
- 11) Sasaki, K., Yamauchi, K. and Kuwano, S.: Metabolic activation of sennoside A in mice. *Planta Medica* **37**, 370-378, 1979
- 12) Kobashi, K., Nishimura, T., Kusaka, M., Hattori, M. and Namba, T.: Metabolism of sennosides by human intestinal bacteria. *Planta Medica* **40**, 225-236, 1980
- 13) Hattori, M., Kim, G., Motoike, S., Kobashi, K. and Namba, T.: Metabolism of sennosides by intestinal flora. *Chem. Pharm. Bull.* **30** (4), 1338-1346, 1982
- 14) Akao, T., Mibu, K., Hattori, M., Namba, T. and Kobashi, K.: Enzymatic reduction of sennidin and sennoside in *Peptostreptococcus intermedius*. *J. Pharmacobio-Dyn.* **8**, 800-807, 1985
- 15) Teruaki, A., Mibu, K., Hattori, M., Namba, T. and Kobashi, K.: Non-enzymatic reduction of sennidins and sennosides by reduced flavin. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 1998-2003, 1987
- 16) 李 傳英, 馬 永華, 王 宝玉, 薛 隆翠: 脾虚泄瀉証動物模型の研究. 浙江中医雜誌 **8**, 355, 1982
- 17) 奥木 実: 眼静脈採血, “実験動物,” 南山堂, 東京, pp. 121-124, 1973
- 18) 藤井儒子, 山良 修: “動物実験手技,” 協同医書出版社, 東京, pp. 385-414, 1975
- 19) “実験動物の飼育管理と手技” (今道友則 監修), ソフトサイエンス社, 東京, p. 252, 1979
- 20) 松永藤雄: 大腸疾患の歴史的変遷. 総合臨床 **26** (6), 1019-1025, 1977
- 21) 杜 如竹: 中医 “証” の動物模型研製の思路和方法初探. 遼寧中医雜誌 **3**, 41-44, 1985
- 22) 北野厚生, 小林絢三, 村井雅己, 田中吉三介, 片山照義, 山口勝治, 桑島士郎, 山本祐夫: Carrageenan による潰瘍性大腸炎の実験モデル作成に関する研究. 日本消化器病学会雑誌 **75** (11), 1719-1726, 1978
- 23) Fairbairn, J.W. and Saleh, M.R.I.: Vegetable purgatives containing anthracene derivatives. Part V. A third active glycoside of senna. *J. Pharm. Pharmacol.* **3**, 918-925, 1951
- 24) 間田直幹, 内蘆耕二, 伊藤正男, 富田忠雄: 体温調節機構・D, 発熱, “新生理学 (下巻) — 植物の機能編一, 第五版,” 医学書院, 東京, pp. 677-679, 1982
- 25) 南京医学院, 南京中医学院中西医结合研究組, 南京中医学院附属医院: 对中医 “脾” 本質的研究探討—95例脾虚泄瀉研究分析. 新医薬学雑誌 **3**, 1-6, 1979
- 26) 金井 泉, 金井正光: 核形移動, “臨床検査法提要 (改定第27版),” 金原出版株式会社, 東京, pp. VI-56-58, 1975
- 27) Broberger, O. and Perlmann, P.: Autoantibodies in human ulcerative colitis. *J. exp. Med.* **110**, 657-674, 1959
- 28) 荒木 仁: 血清蛋白分層, 特にγグロブリン分層に対する考察, 最新医学 **10**, 2170-2181, 1955
- 29) Watt, J. and Marcus, R.: Carrageenan-induced ulceration of the large intestine in guinea pig. *Gut* **12**, 164-171, 1971
- 30) Watt, J. and Marcus, R.: Experimental ulcerative disease of the colon in animals. *Gut* **14**, 506-510, 1973
- 31) MacPherson, B. and Pfeiffer, C.J.: Experimental colitis. *Digestion* **14**, 424-452, 1976
- 32) Hodgson, H.J.F., Potter, B.J., Skinner, J. and Jewell, D.P.: Immune-complex mediated colitis in rabbits. *Gut* **19**, 225-232, 1978
- 33) 飯島宗一: 潰瘍性大腸炎の病理変化, “病理学各論 (上巻),” 文光堂, 東京, pp. 198-199, 1975
- 34) 川俣順一, 松下 宏: 実験的潰瘍性大腸炎 (ウサギ), “疾患モデル動物ハンドブック,” 医歯薬出版株式会社, 東京, pp. 302-307, 1979
- 35) Marcus, R. and Watt, J.: Seaweeds and ulcerative colitis in laboratory animals. *Lancet* **2**, 489-490, 1969
- 36) Junqueira, L.C. and Carneiro, J.: The Liver. “Basic Histology (4th edition),” Maruzen Asia, Singapore, pp. 347-361, 1983
- 37) 山本敏行: B. 肝細胞 hepatic cells, “基準組織学,” 南江堂, 東京, pp. 228-229, 1974
- 38) 金 亜城, 楊 建華, 吳 宝平, 魏 魯華, 趙 明三: 從番瀉葉の臨床及実験研究探討其帰経与功效. 中医雜誌 **11**, 56-57, 1986
- 39) 西川光夫, 岡野綿弥: 副腎皮質, “臨床内分泌学,” 医学書院, 東京, pp. 313-315, 1974
- 40) 三宅 儀, 山本 清: ストレスと下垂体副腎皮質系, “内分泌学II,” 朝倉書店, 東京, pp. 960-971, 1967
- 41) 土屋雅春, 中村 宏, 堀口 文, 亀谷麒与隆, 相生恭好, 安四三弥: 副腎, “内分泌病への手引,” 医学書院, 東京, pp. 149-153, 1969
- 42) 沈 白尹, 王 文健 (整理): 中医虚症弁証参考標準. 中西医结合雑誌 **6**, 598, 1986