

杜仲葉の研究 (IV)

—センナ長期投与による虚弱ラットへの杜仲葉水エキスの影響について—

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)} 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

Studies on Tu-Chung leaves (IV)

Effects of a Tu-Chung leaf (*Eucommia ulmoides*) extract on collapsed rats induced
by a long-term administration of a senna extractYong-Hua MA,^{a)} Jia-Nan YIE,^{a)} Masao HATTORI,^{a)} Shuji KANEKO,^{b)} Yasuyuki NOMURA,^{b)}
Yoichi KURASHIGE,^{c)} Kunihiko WAKAKI^{c)} and Tsuneo NAMBA^{*a)}^{a)}Department of Development for Natural Drug Resources, Research Institute for Wakan-Yaku
(Oriental Medicines), 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

(Received October 22, 1987. Accepted December 21, 1987.)

Abstract

Effects of Tu-Chung leaves on collapsed rats caused by long-lasting diarrhoea were investigated, as a model of a "Pi Xu Zheng" syndrome in traditional Chinese medicine. Compared to the control group, the administered group (Tu-Chung leaf water extract, 30 days, by intubation feeding) showed appreciably morpho-pharmacological changes. Increases in body weights and feeding volumes, as well as rapid cure in diarrhea and fecal occult blood, were observed. Relative weight of organ to body weight increased in the liver, thymus, adrenals, testes and small intestine, and decreased in submandibular glands. Number of RBC, hemoglobin, hematocrit, lymphocytes and specific gravity of blood, A/G value, albumin and β -globulin volume increased, and number of neutrophile leucocytes and α_2 -globulin volume decreased. In hepatocytes content of glycogen and RNA increased. In kidney, PAS reaction was strongly positive in glomerular basement membranes and brush borders of renal tubules. Alkaline and acid phosphatase activities increased in proximal tubular epithelia. In large intestine, content of mucous proteins decreased in goblet cells on bottom of crypts and content of RNA increased in epithelia. In small intestine, acid phosphatase activity increased in absorptive epithelia, and positive Sudan black B staining decreased. Increase in number of hepatocytes, thickening of thymus cortices and zona reticularis of adrenal cortices, hyperplasia of small intestinal villi and seminal tubules were disclosed.

Key words animal model, Chinese medicine, crypts, *Eucommia ulmoides*, histochemistry, senna, zona reticularis

Abbreviations WE-S, water extract of senna, センナ水浸剤; O·AH-2·SP, OLYMPUS·AH-2·Spot-photometer; WE-TC, water extract of Tu-Chung leaves, 杜仲葉水エキス

緒言

杜仲葉は杜仲 (*Eucommia ulmoides* OLIV.) の乾燥葉で、¹⁻³⁾ その化学的研究から杜仲 (樹皮) と類似した成分を含むことが報告されている。⁴⁻¹²⁾ また薬理学的研究から、この水エキスのアルコール可溶部は毒性が少なく、心臓冠動脈の血流量の増加、鎮痛作用などを有することが報告されている。^{13,14)}

著者らは杜仲葉の一般薬理作用、長期投与による正常ラット臓器への影響、あるいはラット脳および心臓レセプター・アデニル酸シクラーゼ系への作用などの研究を報告している。¹⁵⁻¹⁷⁾ 今回、脾虚証の病態モデル動物として新たに開発したセンナ投与による衰弱ラット¹⁸⁾ に杜仲葉水エキスを連続投与し、諸症状の改善効果および組織学的変化を検索した。

材料と方法

1. 使用試薬

(1) センナ水浸剤の調製：1 kg のセンナ (インド産の *Cassia angustifolia* VAHL. の乾燥した小葉、栃木天海堂から入手) に蒸留水 5 l を加え、100°C で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°Cで遮光保存し、実験に供した。¹⁸⁾

(2) 杜仲葉水エキスの調製：1 kg の杜仲葉 (長野県産 *Eucommia ulmoides* OLIV. の夏期採集の乾燥葉) 粉末に蒸留水10 l を加え、100°C で3時間抽出、濾過、減圧濃縮、凍結乾燥後、340 g の水エキスを得た。¹⁶⁾

2. 使用動物

Wistar 系雄性ラット (164-177g) を12匹用い、センナ水浸剤投与終了後に杜仲葉水エキスを投与した投与群とセンナ水浸剤投与終了後に水を投与した対照群の各6匹ずつに分け、温度22±1°C、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、自由に水を摂取させ飼育した。

3. 実験方法

1) 投与

(1) センナ水浸剤の投与：負荷実験のため実験開始1日から25日目にかけて胃ゾンデを用いてセンナ水浸剤を両群のラットに1日2回、各2 ml ずつ7日間、次いで、1日2回、各3 ml ずつ18日間、あわせて25日間連日経口投与した。

(2) 杜仲葉水エキス (以下 '杜仲葉' と略称) の投

与：投与群には実験開始26日目から杜仲葉を前述センナ投与ラットに500 mg/15 ml/kg 体重/日の割合で30日間胃ゾンデを用いて連日経口投与した。対照群にはセンナ投与ラットに蒸留水を15 ml/kg 体重/日の割合で経口投与した。実験開始56日目に両群のラットを屠殺し、形態学的検索をおこなった。

2) 状態観察

(1) 体重、体温、摂食量、糞量の計測：毎日杜仲葉投与の前に測定した。①体重：毎日投与前に動物の体重を一匹ずつ計った。②摂食量：定量飼育を行い、摂食量を算出した。③体温：TERUMO・電子体温計 (FA 28, 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) 糞便の状態および便潜血反応：①糞便の状態：正常便、軟便、粘血便の3段階に分けて観察記録した。②便潜血反応：毎日、体温検査後、肛門内から取り出した糞で潜血反応をおこなった。

(3) 血液の検査：杜仲葉投与27日目、尾静脈から0.7 ml の血液を採集し、¹⁹⁾ 血球数、血色素、ヘマトクリット、血小板数、血球分画、全血比重、albumin および globulin 量を調べた。

(4) 臓器重量および比重量：実験の最終日にラットを断頭、脱血した後、各臓器を摘出し、周辺の結合組織、脂肪組織を取り除き、それぞれの臓器重量を測定した。また、体重100 g 当たりの臓器比重量を求めた。^{20,21)}

(5) 形態学的検索のための標本作成と検索：肝臓、腎臓、大腸、小腸、副腎、睾丸、胸腺を直ちに4×4×2 mm の組織片にし、15%ホルマリンで固定、厚さ6 μm のパラフィン切片を作成、ヘマトキシリン・エオシン (H.E.) 染色²²⁾ をおこない、形態学的検索をおこなった。

(6) 組織化学的検索のための組織切片の作成と測定 (半定量)

(1) 肝臓、腎臓、大腸、小腸におけるDNA およびRNA の検出：各組織片を冷 Carnoy 液固定の厚さ6 μm のパラフィン切片とした後、Feulgen 反応²³⁾ およびメチルグリーン・ピロニン²⁴⁾ 染色をそれぞれ行った。染色したDNA およびRNA の光強度をOLYMPUS・AH-2・spot photometer (以下O・AH-2・SP と略称する) で測定した。また、Feulgen 反応陽性の物質をDNA と判定するため、60°C、1 N 塩酸で水解しない対照標本を作って確認した。

(2) 肝臓におけるグリコーゲンおよび大腸、腎臓

の粘液タンパクの検出：各組織片のCarnoy液固定のパラフィン切片に対して過沃素酸・Schiff反応(PAS反応)を行った。PAS反応の陽性物質であるグリコーゲン(肝臓)、粘液タンパク(大腸粘膜上皮細胞、腎糸球体の基底膜および尿細管の刷子縁と基底膜)の紫紅色物質の光強度をO・AH-2・SPで測定した。またPAS反応の陽性物質がグリコーゲンであることを唾液消化試験を行い確認した。^{25,26)}

(3) 腎臓と小腸におけるアルカリホスファターゼおよび酸ホスファターゼ活性の検出：各組織片を2% glutaraldehyde中で30分間固定し、厚さ6 μ mのクリオスタートの切片を作成し、BurstoneおよびBarkaらの方法によりアルカリホスファターゼ、酸ホスファターゼ活性を測定した。²⁷⁾

(4) 肝臓、小腸、腎臓の中性脂肪および類脂肪の検出：前報と同様の方法でおこなった。²⁸⁾

4. 測定値のt検定

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投与群との有意差を検定した。

結 果

1. 一般状態の変化

1) 体重：センナ投与の前後では、体重およびそ

の増加率は両群間に有意差は認められなかった。しかし、杜仲葉投与後、杜仲葉投与群の体重は実験の最終日まで対照群より有意に増加し($p < 0.01$)、その増加率は有意に高く($p < 0.01$, Table I)、より正常値に近づいた。

2) 摂食量と糞量：センナ投与中すべてのラットの摂食量は減少したが、杜仲葉投与開始後2日目から、実験の最終日まで、杜仲葉投与群の摂食量(28.22~36.66 g/日)は対照群(21.44~32.33 g/日)に比し、毎日有意に増加した($p < 0.01$ ~0.001)。糞量は、杜仲葉投与開始後3週間、杜仲葉投与群(20.00~43.33 g/日)で対照群(16.66~32.33 g/日)より有意に増加したが($p < 0.001$)、4日目からは両群間に有意差が認められなくなった。

3) 下痢と粘血便：杜仲葉投与後下痢便が軟便になるまで、および軟便が正常便になるまでの日数は杜仲葉投与群では対照群よりすべて早く、有意差が認められた($p < 0.001$, Table II)。杜仲葉投与開始から実験最終日までの間の1匹平均便潜血陽性検出回数、および便潜血陰性になるまでの日数は杜仲葉投与群では対照群よりすべて減少し有意差が認められた($p < 0.05$, Table II)。

4) 体温：杜仲葉投与中最初の3週間は、体

Table I Change of body weight.

	Before the experiment	After WE-S		After WE-TC or W	
	body weight (g)	Body weight (g)	Increased rate	Body weight (g)	Increased rate
Control group	168.50 \pm 1.80	210.10 \pm 4.59	24.67 \pm 2.87%	357.33 \pm 6.32	69.55 \pm 1.22%
Administered group	168.90 \pm 1.33	211.00 \pm 4.36	24.92 \pm 2.93%	377.71 \pm 4.22**	79.01 \pm 2.76**

Annotation: ①Data: mean \pm S.E., ②「**」: $p < 0.01$.

③WE-S: Intubation feeding of a water extract of senna.

WE-TC: Intubation feeding of a water extract of Tu-Chung leaves.

W: Intubation feeding of water in the control group.

Table II Change of fecal condition.

	Control group	Administered group
Days required of changing diarrhoea into soft feces	5.66 \pm 0.20	2.00 \pm 0.00***
Days required of changing soft feces into normal feces	19.66 \pm 0.75	5.33 \pm 0.21***
Positive times of occult blood	9.33 \pm 1.83	3.67 \pm 1.16*
Days required of disappearance of occult blood	23.67 \pm 0.20	11.67 \pm 3.69*

Annotation: ①Data: mean \pm S.E., ②「*」: $p < 0.05$, 「***」: $p < 0.001$.

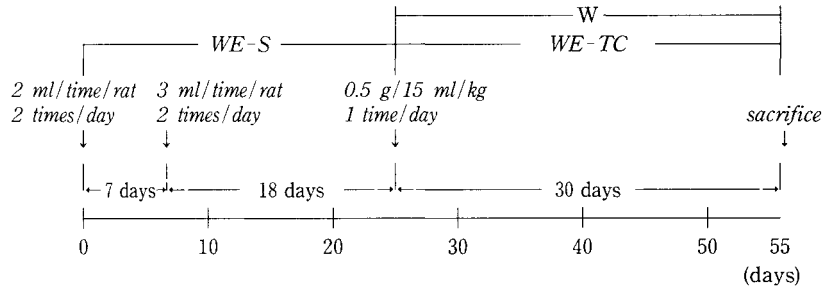


Fig. 1 Intubation feeding of water extract of senna (WE-S) and Tu-Chung leaves (WE-TC).
W : Intubation feeding of water in the control group.

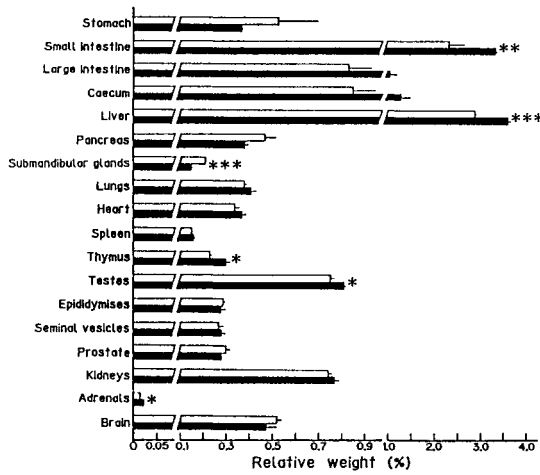


Fig. 2 Relative weights of organs to the body weight in control (□) and administered (■) groups (%).

Data : (organ weight/body weight) × 100
②* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$.

温は両群間で有意差が認められなかったが、4週目から杜仲葉投与群の体温 (39.20~39.56℃) は対照群 (38.63~39.10℃) よりやや高くなった ($p < 0.05 \sim 0.01$)。

2. 臓器および脂肪の比重量

杜仲葉投与群は対照群に比し、肝臓、胸腺、睾丸、副腎、小腸では有意に増加し ($p < 0.05 \sim 0.001$)、顎下腺では有意に減少した ($p < 0.001$)。しかし胃、大腸、盲腸、脾臓、肺臓、心臓、脾臓、副睾丸、精囊腺、前立腺、腎臓、脳、精束脂肪、腸間膜脂肪、腎臓脂肪囊では両群間に有意差が認められなかった (Fig. 2, Table III)。

3. 血液所見

1) 血液の変化：杜仲葉投与群の赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、リンパ球数は対照群より有意に増加し ($p < 0.001$)、好中球数、網状赤血球数、N/L比は有意に減少し ($p < 0.01 \sim 0.001$)、正常値近くに復していた。一方、白血球総数、および血小板、好酸球、単球の数は、両群間で有意差が認められなかった (Table IV-A)。

2) 好中球の核型移動：杜仲葉投与群の分節核球

Table III Weight of adipose tissue in the control and administered groups (g).

	Spermatic funicles	Mesocolon	Adipose capsules of both kidneys
Control group	1.40 ± 0.10	1.04 ± 0.16	1.98 ± 0.28
Administered group	1.55 ± 0.09	1.35 ± 0.07	2.19 ± 0.21

Annotation : ①Data : The ratio of adipose tissue to body weight = (absolute weight/body weight) %.

②mean ± S.E.

総数および3分節核球の数は対照群より有意に減少し、正常値近くに復していた ($p < 0.01$)。一方、桿状核球、2分節核球、4分節核球は両群間に有意差が認められなかった (Table IV-B)。

3) 血液生化学的变化: 杜仲葉投与群の α_2 -globulin は対照群より低下し正常値近くに復し、杜仲葉投与群の全血比重、albumin/globulin 比、albumin、 β -globulin は対照群に比し、有意に増加したが ($p < 0.01 \sim 0.001$, Table IV-C), 全血比重、albumin/globulin 比、albumin は正常より低く、 β -globulin は正常より高かった。

4. 組織化学的および形態学的所見

1) Feulgen 反応によるDNA量の測定結果: 肝細胞、腎臓尿管上皮細胞、大腸粘膜陰窩上皮細胞におけるDNA量は、両群間に有意差が認められなかった (Table IV)。

2) メチルグリーン・ピロニン染色によるRNA量の測定結果: 杜仲葉投与群の肝細胞、大腸粘膜陰窩浅部と深部の上皮細胞、小腸粘膜陰窩上皮細胞におけるRNA量は対照群より有意に増加した ($p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.05$, Fig. 3, Table V)。腎尿管上皮細胞におけるRNA量は両群間に有意差が認められなかった。

3) 肝臓、腎臓、大腸におけるPAS反応陽性物質(グリコーゲンおよび粘液タンパク)の測定結果: 杜仲葉投与群の肝細胞におけるグリコーゲンの含有量は対照群より有意に増加し ($p < 0.001$, Fig. 4-A, B, Table V), 杜仲葉投与群の腎糸球体の基底膜および尿管上皮細胞の刷子縁と基底膜におけるPAS反応の強度は対照群より有意に増強し ($p < 0.05$, $p < 0.001$, Fig. 4-C, D, Table V), また大腸粘膜の陰窩深部の杯細胞における粘液タンパク

Table IV Blood and serological examinations.

A. Blood cell counts.		
	Control group	Administered group
Red blood cells ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	523.33 \pm 1.11	785.66 \pm 4.34***
White blood corpuscles ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	1.498 \pm 0.11	1.496 \pm 0.03
Hemoglobin (g%)	12.86 \pm 0.24	15.50 \pm 0.12***
Hematocrit (%)	37.66 \pm 0.16	43.10 \pm 0.33***
Blood platelets ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	109.35 \pm 3.67	116.16 \pm 4.63
Neutrophile leucocytes (%)	34.66 \pm 0.91	21.66 \pm 3.08**
Eosinophile leucocytes (%)	0.33 \pm 0.21	0.33 \pm 0.20
Lymphocytes (%)	60.00 \pm 0.72	75.33 \pm 2.91***
Monocytes (%)	3.66 \pm 0.21	2.66 \pm 0.21
Reticulocytes (%)	96.00 \pm 0.36	87.00 \pm 3.92***
N/L	0.57 \pm 0.02	0.29 \pm 0.05**
B. Cell counts of neutrophile leucocytes (%).		
	Control group	Administered group
Stab form leucocytes	4.66 \pm 0.41	3.33 \pm 0.83
Segmented leucocytes	30.00 \pm 0.95	18.33 \pm 2.43**
2 segments	16.66 \pm 1.99	11.00 \pm 1.66
3 segments	9.33 \pm 1.04	5.00 \pm 0.36**
4 segments	2.00 \pm 0.95	2.33 \pm 0.41
C. Specific gravity of blood and graduated protein of serum (%).		
	Control group	Administered group
Specific gravity of blood	1.055 \pm 0.0001	1.057 \pm 0.0001**
Albumin/Globulin	0.84 \pm 0.04	1.09 \pm 0.05**
Albumin	43.13 \pm 0.41	51.96 \pm 1.26***
α_1 -Globulin	17.13 \pm 1.02	15.76 \pm 0.65
α_2 -Globulin	23.76 \pm 0.62	16.36 \pm 1.29***
β -Globulin	13.30 \pm 0.36	15.90 \pm 0.53**
γ -Globulin	0	0

Data: mean \pm S.E., **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$.

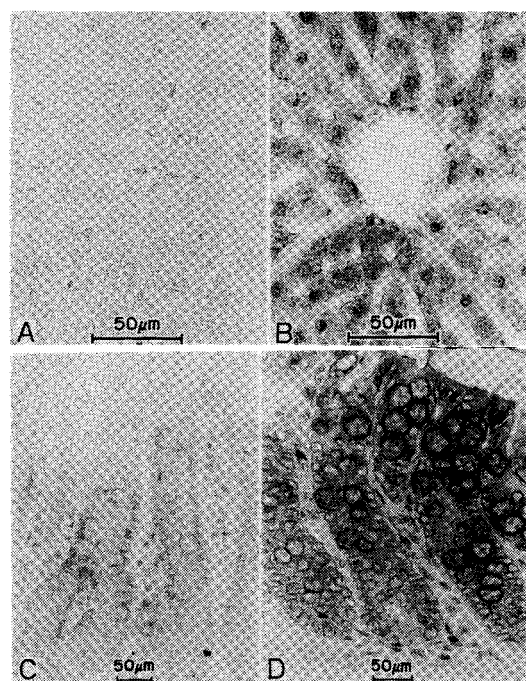


Fig. 3 Staining of methyl green · pyronin : increased staining in hepatic cells (above) and epithelia of the large intestine (below) in the administered group (B, D) compared with control group (A, C).

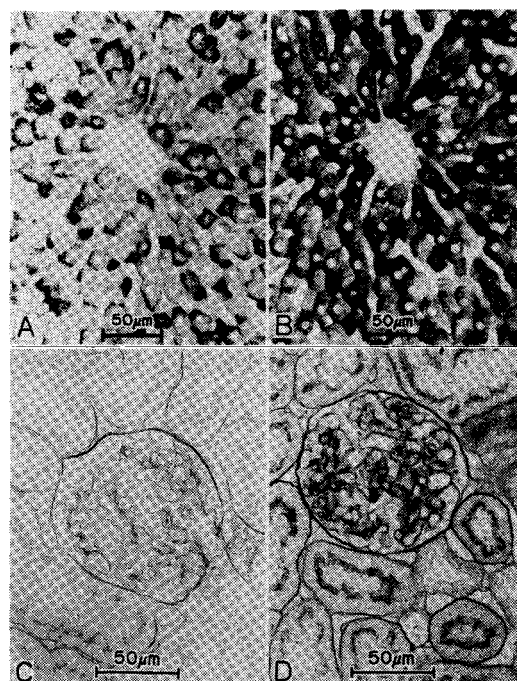


Fig. 4 PAS reaction : increased staining in hepatic cells (above), and on glomerular basement membranes and brush borders of renal tubules (below) in the administered group (B, D) compared with control group (A, C).

Table V Histochemical analysis in the control and administered groups with a spot-photometer.

Staining methods	Localization in organs	Optical intensity	
		Control group	Administered group
Feulgen's reaction	DNA in hepatic cells	6.88±0.05	6.83±0.02
	DNA in proximal tubular epithelia	6.46±0.04	6.41±0.03
	DNA in crypt epithelia of the large intestine	6.15±0.14	6.17±0.09
Methyl green · pyronin	RNA in hepatic cells	11.11±0.14	13.77±0.13***
	RNA in renal tubular epithelia	9.28±0.08	9.22±0.001
	RNA in epithelia on the surface of the crypts of the large intestine	16.39±0.18	18.25±0.47**
	RNA in epithelia on the bottom of the crypts of the large intestine	16.50±0.14	20.29±1.22*
	RNA in epithelia of the small intestine	1.08±1.18	1.18±0.03*
PAS reaction	Glycogen in hepatic cells	1.98±0.01	2.10±0.01***
	Mucous protein of glomerular basement membranes	8.94±0.12	9.47±0.14*
	Mucous protein of brush borders of renal tubular epithelia	1.34±0.004	1.46±0.01***
	Mucous protein of goblet cells on the surface of the crypts of the large intestine	51.15±1.23	47.27±1.61
	Mucous protein of goblet cells on the bottom of the crypts of the large intestine	13.26±0.02	11.87±0.17**
Reaction of alkaline phosphatase	Brush borders of proximal tubular epithelia	53.88±6.83	91.48±0.56**
	Brush borders of small intestinal absorptive cells	32.71±4.50	35.31±3.97
Reaction of acid phosphatase	Epithelia of proximal convoluted tubules	1.83±0.05	2.67±0.08***
	Absorptive cells of the small intestine	31.56±1.03	45.15±2.35***
Sudan black B	Hepatic cells	5.26±0.33	5.17±0.33
	Absorptive cells of small intestinal villi	10.47±0.81	3.95±0.23***
	Basal striations of renal tubular epithelia	9.20±0.95	5.95±0.24**

Annotation : ①Data of optical intensity, mean±S.E., ②「*」: p<0.05, 「**」: p<0.01, 「***」: p<0.001

量は対照群より有意に減少していたが ($p < 0.01$, Fig. 5-A, B, Table V), 陰窩浅部の杯細胞では両群間に有意差が認められなかった。

4) 腎臓および小腸におけるアルカリホスファターゼ活性の測定結果: 杜仲葉投与群の腎尿細管上皮細胞の刷子縁におけるアルカリホスファターゼ活性は対照群に比して有意に増強したが, ($p < 0.01$, Fig. 5-C, D, Table V), 小腸粘膜絨毛の上皮細胞では, 両群間に有意差が認められなかった。

5) 腎臓, 小腸における酸ホスファターゼ活性の測定結果: 杜仲葉投与群の腎尿細管上皮および小腸粘膜絨毛の上皮細胞における酸ホスファターゼ活性は対照群より有意に増強していることが認められた ($p < 0.001$, $p < 0.001$, Fig. 6, Table V)。

6) 肝臓, 小腸, 腎臓における Sudan black B

染色の結果: 肝細胞内における脂肪滴の含有量は両群の間に有意差が認められなかった。杜仲葉投与群の小腸粘膜絨毛の上皮細胞の呈色反応は対照群より有意に弱くなった ($p < 0.001$, Fig. 7-A, B, Table V)。杜仲葉投与群の腎尿細管上皮細胞の基底線条部(ミトコンドリアの主な分布域あたり)の特有の呈色反応は対照群より有意に弱かった ($p < 0.01$, Fig. 7-C, D, Table V)。

7) 主な臓器の組織学的変化

(1) 肝臓では, 前回杜仲葉投与実験¹⁶⁾でみられたような杜仲葉投与群の肝細胞の小型化, 数の増加がみられた。一定視野内($\times 400$)の肝細胞の数では杜仲葉投与群 (21.66 ± 0.67) は対照群 (18.83 ± 0.75) より有意に増加し ($p < 0.05$), 杜仲葉投与群肝細胞の大きさの平方根 (18.93 ± 0.25) は対

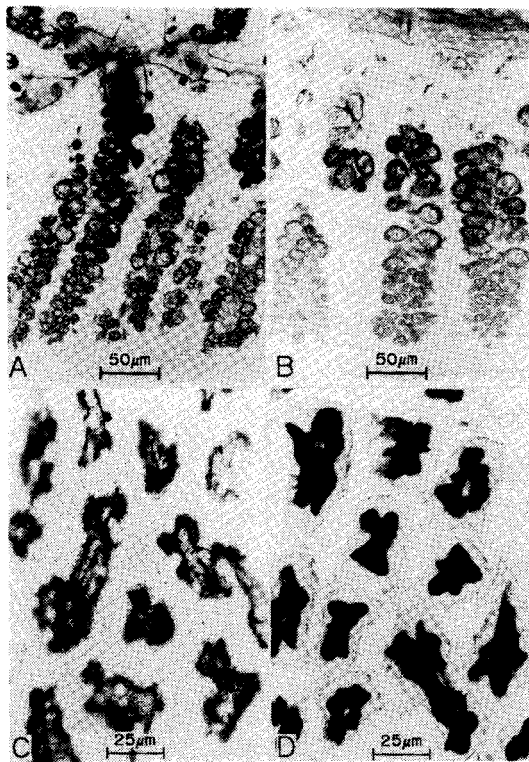


Fig. 5 PAS reaction (above): decrease of positive goblet cells of large intestine in the administered group (B) compared with control group (A).

Reaction of alkaline phosphatase (below): increased staining on brush borders of proximal tubular epithelia in the administered group (D) compared with control group (C).

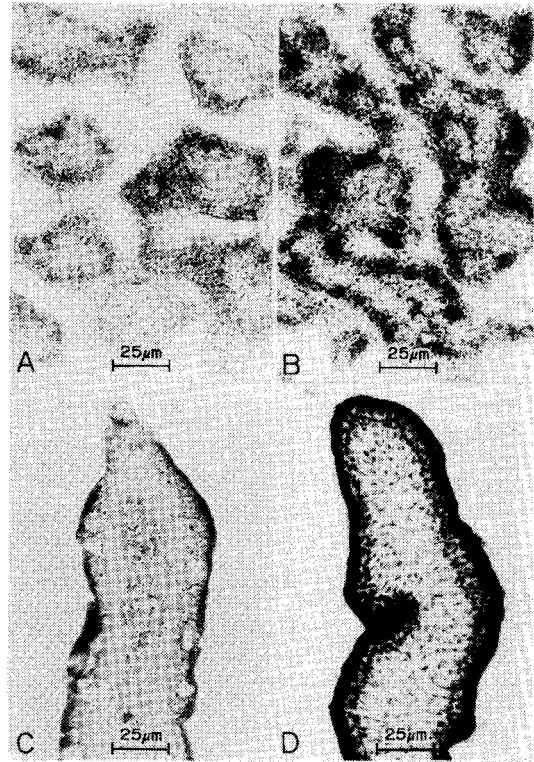


Fig. 6 Reaction of acid phosphatase: increased staining in epithelia of proximal convoluted tubules (above) and absorptive cells of the small intestine (below) in the administered group (B, D) compared with control group (A, C).

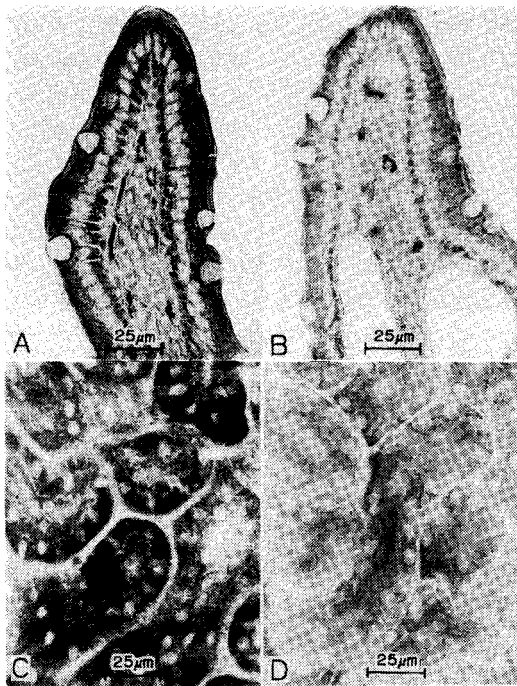


Fig. 7 Reaction of Sudan black b : decreased staining in absorptive cells of small intestinal villi (above) and basal striation (arrow) of renal tubular epithelia (below) in the administered groups (B, D) compared with control group (A, C).

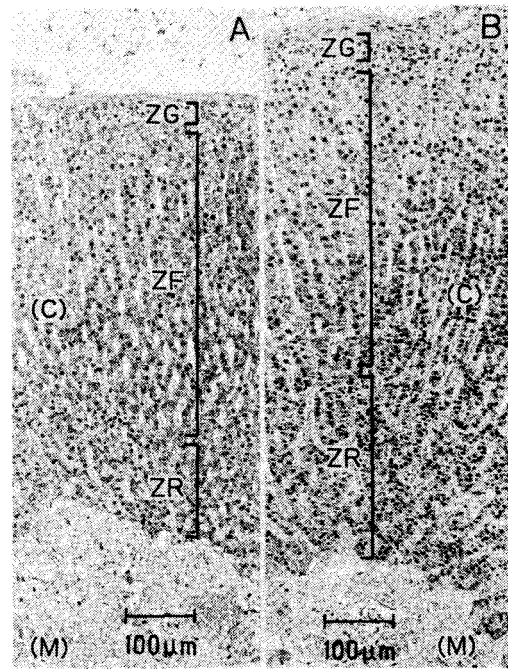


Fig. 8 Histological changes of the adrenal cortices in the control (A) and administered (B) groups. H.E. stain. (C) : cortex, (M) : medulla, ZG : zona glomerulosa, ZF : zona fasciculata, ZR : zona reticularis.

Table VI 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	91.00±3.65	4.83±0.16	71.16±3.69	14.83±1.13	34.83±2.98	2.67±0.17
Administered group	91.83±5.5	4.33±0.33	60.66±5.01	26.66±1.51***	40.33±2.62	2.34±0.25

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

照群 (20.87±0.55) より有意に小さかった ($p < 0.05$)。

(2) 腎臓では対照群に比し杜仲葉投与群では尿細管上皮の混濁腫脹が減弱していた。

(3) 杜仲葉投与群の大腸では前回センナ投与でみられた“びらん性大腸炎¹⁸⁾”は消失していたが、対照群にみられる粘液の過剰分泌と粘液分泌細胞の増加 (60%以上を占める) は杜仲葉投与群でいずれも減少していた。

(4) 小腸では対照群 (508.30±26.39 μm) に比し

杜仲葉投与群 (840.00±60.07 μm) で絨毛丈が延長していた ($p < 0.001$)。

(5) 副腎では杜仲葉投与群の皮質網状層の厚さが対照群より有意に増加していたが ($p < 0.05$, Fig. 8, Table VI), 前回センナ投与でみられた皮質束状層の厚さの増加¹⁸⁾は、杜仲葉投与群では正常幅に近くなっていた。

(6) 睪丸では対照群に比し杜仲葉投与群で精細管の屈曲延長と精子形成亢進がみられ、前立腺では杜仲葉投与群で腺の増生がみられた。

(7) 胸腺では対照群 ($418.33 \pm 37.46 \mu\text{m}$) に比し杜仲葉投与群 ($778.33 \pm 70.74 \mu\text{m}$) で皮質幅の増加がみられた ($p < 0.01$)。

考 察

著者らは杜仲葉水エキスの正常動物での血圧降下、利尿作用^{29,30)} およびその肝臓における組織化学的变化について報告している^{15,16)}。今回、センナ投与による虚弱病態ラットに¹⁸⁾ 杜仲葉水エキスを1カ月間投与して、諸状態の変化および諸臓器の形態学および組織化学的検索を行った。

1. 一般状態の変化

1) 体重：当然のことながらセンナ連日投与の前後では、両群間に体重およびその増加率には有意差は認められないが、杜仲葉投与開始後、杜仲葉投与群の体重は対照群より速やかに増加した。実験の最終日では杜仲葉投与群の体重は対照群より有意に増加し、その増加率も有意に高い値を示した (各 $p < 0.01$)。これは杜仲葉投与による消化吸収機能の亢進、摂食量の増加、臓器重量の増加に関連しているものと思われる。

2) 摂食量と糞量：センナ投与中、ラットの摂食量は顕著に減少するが、¹⁸⁾ 杜仲葉投与後2日目から、実験の最終日まで杜仲葉投与群の摂食量は対照群より有意に増加した。このことは杜仲葉に食欲増進作用があるものと思われる。杜仲葉投与開始の2日目から、摂食量の増加につれて糞量も増加した。しかし4週目からは摂食量が増加しても、糞量にはあまり増加が認められず、両群間に有意差が認められなくなった。これは消化吸収機能が回復し、食餌がよく吸収利用される様になったためと考えられる。

3) 下痢と粘血便：センナ連日投与により引き起こされる重篤なラットの下痢と粘血便、便潜血反応は、杜仲葉投与後、杜仲葉投与群では対照群より有意に早く、正常化した。これらは杜仲葉投与による大腸炎の改善、粘液分泌の減少などが関連しているものと考えられる。

4) 体温の変化：センナ連日投与中には虚弱ラットの体温は正常な対照群より有意に上昇するが、¹⁸⁾ 杜仲葉投与を開始しても、体温は両群間に有意差が認められなかった。ところが4週目から杜仲葉投与群の体温は対照群よりやや高くなる傾向がみられた。この体温上昇が正常ラットにおいても一般的に観察されるかどうか、今後検討を要する。

2. 臓器比重量の変化

杜仲葉投与群は対照群に比べて、肝臓、胸腺、辜

丸、副腎、小腸で臓器比重量が有意に増加したが、顎下腺では有意に減少し、他の臓器および体内脂肪では有意差がなかった。肝臓と小腸は消化吸収、代謝に、胸腺は免疫機能に、辜丸と副腎は内分泌と生殖に関与する臓器であるから、これらの臓器の比重量の増加は、杜仲葉の滋養強壯作用と関係があると思われる^{1,2)}。そして、これら臓器重量の増加が体重増加に関係しているものと判断される。しかし、体内脂肪量は両群間で有意差がなかったことは、後で述べるように A/G 比や albumin 値が低く未だ正常化していないことからうなずける。

3. 血液の変化

1) 血球の変化

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値は、杜仲葉投与群では対照群よりすべて有意に増加し正常値により近くなった ($p < 0.001$)。杜仲葉投与群の血小板はやや増加傾向が認められたが、有意差がなかった。センナ投与による虚弱ラットに対して杜仲葉投与は栄養改善を介して造血機能の正常化を促進する作用を有していると考えられる^{31,32)}。

白血球総数は両群間に有意差が認められなかったが、好中球数では、杜仲葉投与群が対照群より有意に減少し正常化した。これは、杜仲葉の滋養強壯、抵抗力増強作用によって大腸の炎症状態が著明に改善した結果、好中球が有意に減少したものと考えられる³³⁾。このことは便潜血反応が杜仲葉投与群で有意に早期から陰性化することからも類推できる。

一方、杜仲葉投与群のリンパ球は対照群より有意に増加し正常化した。とくに好中球 (N) のリンパ球 (L) に対する N/L 比は杜仲葉投与群 (0.29 ± 0.05) では対照群 (0.57 ± 0.02) より有意に低下し正常化した ($p < 0.01$)。これらは、杜仲葉投与群の生体の免疫機能が正常化されている可能性を示すものと思われる^{33,34)}。

白血球の核型移動を見ると、杜仲葉投与群の分節核球合計と3分節核球数が対照群より有意に減少し正常化していることから、杜仲葉投与群では対照群に比し、核左方移動および重篤な炎症などの病的状態が改善されたことを示している。これらの点も杜仲葉の免疫機能亢進作用と関連しているものと判断される^{34,35)}。

2) 血液生化学的变化

杜仲葉投与群の全血比重が対照群より有意に高くなっていったことは肝機能の改善による血色素量、ヘマトクリット値、albumin 量の増加と一致しているものと考えられる³⁶⁾。

しかし、albumin/globulin 比および albumin 量

は前回実験結果よりさらに低下しており¹⁸⁾、杜仲葉投与群では対照群より有意な増加が見られるが未だ正常化していない。albumin は生体栄養状態を反映するものであり、また血漿に膠質浸透圧を与え、水分の血管内維持や循環血漿量の維持に役立っている。したがってこれらの結果は、杜仲葉投与により、腸内栄養成分の消化吸収、肝機能の回復、アルブミンの合成などが増強されたことを示すものと判断される³⁷⁾。

α_1 -globulin と α_2 -globulin は杜仲葉投与群では対照群より減少し、特に α_2 -globulin の減少には有意差が認められ正常化した。これは炎症の回復と関連があるものと思われる³⁶⁾。

β -globulin 分画は両群ともに増加しており、杜仲葉投与群では対照群より有意に増加した。 β -globulin 分画には種々の生理機能を有する蛋白成分が含有されている。例えば、transferrin のように血液中の鉄を輸送する β -globulin には機能的タンパク質などが含まれていることから、造血機能とも関連しているものと考えられる³⁶⁾。

4. 臓器の形態学および組織化学的变化

1) 肝臓の変化：杜仲葉投与群の肝細胞内におけるグリコーゲン含有量が対照群より有意に増加し組織学的に小型細胞の増生がみられたことは、肝臓重量の有意の増加と考え合わせ、肝臓内栄養貯蔵および基本的機能の改善を示すと考えられる^{38,39)}。肝細胞内 DNA 量は両群間に有意差が認められなかったが、杜仲葉投与群の RNA 量は対照群より有意に増加していたことから、肝機能の回復および albumin の合成と関連しているものと考えられる⁴⁰⁾。

2) 腎臓の変化：杜仲葉投与群の腎糸球体の基底膜および尿細管の基底膜と刷子縁における PAS 反応強度は有意に増強し、腎尿細管上皮細胞の基底膜条部の Sudan black B 呈色反応も有意に減弱し、組織学的にも尿細管上皮細胞の混濁腫脹の改善がみられた。このことから、センナ投与による虚弱状態が改善してきたことを示すものと考えられる。しかし、杜仲葉投与群の腎尿細管のアルカリホスファターゼおよび酸ホスファターゼ活性はすべて対照群より有意に増強していたことは、腎臓尿細管上皮細胞の分泌、再吸収、リン酸吸収など機能亢進が持続しているものと考えられる⁴¹⁾。

3) 大腸の変化：センナ投与後、下痢による大腸粘膜の保護のため数多くの杯細胞が見られ、杯細胞の PAS 反応は強陽性になっていたが、杜仲葉投与により炎症の回復は対照群より早く、杯細胞数は減少し粘液の分泌も減少して、杯細胞の PAS 反応は

弱くなっていた⁴²⁾。一方、大腸粘膜陰窩上皮細胞の DNA 量は両群間に有意差が認められなかったが、杜仲葉投与群大腸粘膜陰窩上皮細胞の RNA 量は対照群より有意に増加していた。このことは大腸粘膜損傷の修復、機能の増進と関連があるものと思われる。

4) 小腸の変化：センナ投与による下痢虚弱ラットでは、小腸蠕動の抑制、吸収機能の低下、異物の蓄積により、小腸粘膜絨毛上皮細胞の酸ホスファターゼ活性が対照群より増強していた⁴³⁾。ところが杜仲葉投与によっても酸ホスファターゼ活性は引き続き対照群より有意な増強を示し、絨毛上皮細胞内の RNA 量も対照群より増加し組織学的に対照群に比し杜仲葉投与群では絨毛丈が延長していた。一方、杜仲葉投与群では小腸粘膜絨毛上皮細胞内の核上部ゴルジ領域の Sudan black B 染色反応は対照群より減弱していた。以上のことから小腸では消化吸収の改善と機能亢進が起っていると判断される⁴⁴⁾。

5) 副腎の変化：杜仲葉投与群の副腎比重量は対照群より有意に増加し、組織学的にもその皮質網状層の厚さが対照群より有意に増加していた ($p < 0.05$)。網状帯の内分泌機能は性ホルモンと密に関連し、杜仲葉投与群睾丸比重量の有意な増加と一致しているものである。このことは杜仲葉の薬効は生体における下垂体—副腎皮質—性腺系の機能と関連があるかと考えられる^{6,45-47)}。一方、杜仲葉投与群では皮質束状層の厚さが正常化していたことは、下痢の早期改善と関連していると判断される。

6) 睾丸の変化：睾丸の増大は副腎の変化に関連しており⁴⁷⁾、組織学的には対照群に比し杜仲葉投与群では精細管の屈曲延長と精子形成の亢進がみられた。前立腺の比重量は両群間に有意差はなかったが、組織学的には杜仲葉投与群で腺の増生がみられた。これらは杜仲葉の生殖腺に対する薬効と考えられる。

7) 胸腺の変化：組織学的には対照群に比し、杜仲葉投与群では皮質幅の増加がみられた。このことは胸腺比重量の有意な増大と考え合わせ、リンパ球の増加、生体免疫機能の増進と密接な関係があるものと思われる。

結 論

杜仲葉水エキスを虚弱病態ラットに投与し、一般状態ならびに血液の変化、肝臓、腎臓、大腸、小腸、副腎、睾丸、胸腺などの主な臓器についての組織化学的および形態学的変化を検索し、次の点を明

らかにした。

杜仲葉水エキスは虚弱病態ラットに対して睾丸重量の増加および副腎皮質網状層の肥大, 肝臓におけるタンパク質合成および糖代謝機能の改善, 腎臓および腸における排泄と吸収の調整, さらに免疫機能および虚弱病態の改善等の作用を思わせる形態学的所見を得た。

文 献

- 1) 江蘇新医学院: “中薬大辞典”, 上海人民出版社, 上海, pp. 1031-1033, 1977
- 2) 李 時珍: “本草綱目 (第3冊)”, 人民衛生出版社, 北京, pp. 1986-1987, 1987
- 3) 難波恒雄: “原色和漢薬図鑑 (下)”, 保育社, 大阪, pp. 144-145, 1980
- 4) 王 景祥, 張 黎明, 楚 万照: 杜仲葉和杜仲皮的成分比較. 中草薬 18(8), 11, 1987
- 5) Bianco, A., Bonini, C., Guiso, M., Iavarone, C. and Trogolo, C.: Iridoids. XXVI. Ulmoside (aucubigenin-1- β -isomaltoside), a new iridoid from *Eucommia ulmoides*. *Gazzeta Chimica Italiana* 108, 17-20, 1978
- 6) Bianco, A., Iavarone, C. and Trogolo, C.: Structure of eucommiol, a new cyclopentenoid-tetrol from *Eucommia ulmoides*. *Tetrahedron* 30, 4117-4121, 1974
- 7) Deyama, T.: The constituents of *Eucommia ulmoides* OLIVE. I. Isolation of (+)-medioresinol di-O- β -D-glucopyranoside. *Chem. Pharm. Bull.* 31(9), 3651-3659, 1985
- 8) Charles, J.S., Ravikumar, P.R. and Huang F.C.: Isolation and synthesis of pinoresinol diglucoside, a major anti-hypertensive principle of *Tu-Chung (Eucommia ulmoides, Oliver.)*. *J. Am. Chem. Soc.* 98, 5412-5413, 1976
- 9) Deyama, T., Ikawa, T. and Nishibe, S.: The constituents of *Eucommia ulmoides* OLIV. II. Isolation and structures of three new lignan glycosides. *Chem. Pharm. Bull.* 33(9), 3651-3657, 1985
- 10) Deyama, T., Ikawa, T., Kitagawa, S. and Nishibe, S.: The constituents of *Eucommia ulmoides* OLIV. III. Isolation and structure of a new lignan glycoside. *Chem. Pharm. Bull.* 34(2), 523-527, 1986
- 11) Guseva, A.R. and Borikhina, M.G.: Accumulation of gutta and resin in the *Eucommia* leaves during vegetation. *Doklady Akad. Nauk. S.S.S.R.* 93, 871-873, 1953
- 12) Horii, Z., Ozaki, Y., Nagao, K. and Kim, S.: Ulmoprenol, a new type C₃₀-polyprenoid from *Eucommia ulmoides, Oliver.* *Tetrahedron Lett.* 50, 5015-5016, 1978
- 13) 李 家実, 閻 玉凝: 杜仲皮与薬化学成分初步研究. 中薬通報 11(8), 41-42, 1986
- 14) 朱 麗青, 張 黎明, 貢 瑞生, 王 景祥: 杜仲葉和杜仲皮的薬理実験. 中草薬 17(12), 15-17, 1986
- 15) 難波恒雄, 服部征雄, 葉 加南, 馬 永華, 野村靖幸, 金子周司, 北村佳久, 小泉 保, 片山和憲, 盧 焯: 杜仲葉の研究 (I) 水抽出画分の一般薬理作用. 和漢医薬学会誌 3(2), 89-97, 1986
- 16) 馬 永華, 葉 加南, 服部征雄, 金子周司, 野村靖幸, 若木邦彦, 倉茂洋一, 難波恒雄: 杜仲葉の研究 (II) 杜仲葉水エキス長期投与によるラットへの影響について. 和漢医薬学会誌 4(1), 26-34, 1987
- 17) 野村靖幸, 金子周司, 北村佳久, 東田道久, 難波恒雄, 服部征雄, 葉 加南: 杜仲葉水抽出画分のラット脳および心臓レセプター・アデニル酸シクラーゼ系への作用. 和漢医薬学会誌 3(3), 328-329, 1986
- 18) 馬 永華, 葉 加南, 服部征雄, 金子周司, 野村靖幸, 若木邦彦, 倉茂洋一, 堀越 勇, 難波恒雄: 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一. 和漢医薬学会誌 4(2), 138-148, 1987
- 19) 奥木 実: 眼静脈採血. “実験動物”, 南山堂, 東京, pp. 121-124, 1973
- 20) 藤井儔子, 小山良修: “動物実験手技”, 協同医書出版社, 東京, pp. 385-414, 1975
- 21) “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
- 22) ヘマトキシリン・エオジン染色. “病理組織標本の作り方 (第4版)” (影山圭三 監修), 医学書院, 東京, pp. 70-77, 1976
- 23) フォイルゲン反応 (Feulgen). “病理組織標本の作り方 (第6版)” (渡辺陽之輔, 坂口 弘, 細田泰弘 監修), 医学書院, 東京, pp. 160-161, 1986
- 24) メチルグリーン・ピロニン法. “病理組織標本の作り方 (第6版)” (渡辺陽之輔, 坂口 弘, 細田泰弘 監修), 医学書院, 東京, pp. 162-164, 1986
- 25) Mcmanus, J.F.A.: Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Tech.* 23, 99-108, 1948
- 26) 佐野 豊: 過沃素酸—Schiff 反応 (PAS 反応). “組織学研究法”, 南山堂, 東京, pp. 455-456, 1981
- 27) 日本病理学会編: ホスファターゼの組織化学. “病理技術マニュアル4—病理組織化学とその技術”, 医歯薬出版株式会社, 東京, pp. 14-23, 1986
- 28) 佐野 豊: スタン黒B (Sudan black B) 染色. “組織学研究法”, 南山堂, 東京, p. 480, 1981
- 29) Mudge, G.H.: “The Pharmacological Basis of Therapeutics. 5th. ed.” (Eds. by L. S. Goodman and A. Gilman), Macmillan, New York, p. 817, 1975
- 30) Lemann, J.Jr., Piering, W.F. and Lennon, E.J.: Studies of the acute effects of aldosterone and cortisol on the interrelationship between renalsodim, calcium and magnesium excretion in normal man. *Nephron* 7, 117-130, 1970
- 31) 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”本質の研究探討—95例脾虚泄瀉研究分析. 新医薬学雑誌 3, 1-6, 1979
- 32) 細胞学的検査法. “臨床検査法提要 (改定第27版)” (金井泉, 金井正光 編著), 金原出版株式会社, 東京, pp. IV-9-49, 1975
- 33) 白血球像の臨床的価値. “臨床検査法提要 (改定第27版)” (金井泉, 金井正光 編著), 金原出版株式会社, 東京, pp. IV-62-67, 1975
- 34) 徐 詩倫, 曾 慶卓, 潘 正興: 杜仲对細胞免疫功能的影響. 中草薬 16(9), 15-16, 1985

- 35) 核形移動. “臨床検査法提要 (改定第27版)” (金井 泉, 金井正光 編著), 金原出版株式会社, 東京, pp. IV-56-58, 1975
- 36) 血漿タンパク定量法. “臨床検査法提要 (改定第27版)” (金井 泉, 金井正光 編著), 金原出版株式会社, 東京, pp. VI-8-29, 1975
- 37) 血漿の生理および病理化学. “血液化学” (黒田嘉一郎, 吉川春寿, 中尾喜久, 脇坂行一), 朝倉書店, 東京, pp. 505-528, 1963
- 38) 谷川久一: 肝臓の構造と機能. “肝, 胆, 脾疾患の臨床,” 南山堂, 東京, pp. 1-11, 1974
- 39) 村岡松生, 相磯貞和, 三浦総一郎, 田中 義, 北洞哲治, 水野嘉夫, 朝倉 均, 土屋雅春, 日比紀文, 鈴木絃一, 横田 曄, 宇都宮利喜: 潰瘍性大腸炎による腸管合併症の検討. 日本消化器病学会雑誌 75(11), 1727-1734, 1978
- 40) 織田敏次, 鈴木 宏: 肝の機能—4. 核酸代謝 nucleic acid metabolism. “肝臓の病気,” 中外医学社, 東京, pp. 27-53, 1972
- 41) 相川正道, 翠川 修: 正常腎組織構造—尿管. “腎臓疾患の病理と臨床,” 南山堂, 東京, pp. 23-34, 1981
- 42) 織田敏次, 岡 博: 腸上皮細胞の微細構造. “消化管機能と病態,” 中外医学社, 東京, pp. 28-38, 1981
- 43) 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
- 44) 山元寅男: 形態学的立場から見た消化吸収—小腸吸収細胞を中心として—. “消化器臨床生理 (2巻)” (消化器臨床生理研究会編), 医事出版社, p. 7, 1978
- 45) 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
- 46) 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. 916-971, 1967
- 47) 土室雅春, 中村 宏, 堀口 文, 亀谷麟与隆, 相生恭好, 安四三弥: 副腎. “内分泌病への手引,” 医学書院, pp. 149-153, 1969