

漢方方剤の薬理活性研究 (第2報) 大黃蟄虫丸エキスを投与による慢性炎症への影響

松田 秀秋*, 塩本 秀己, 久保 道德

近畿大学薬学部薬用植物学研究室

Pharmacological study on Kampo-hozai. II. Effects of Daio-shachu-gan on experimental chronic inflammation

Hideaki MATSUDA*, Hidemi SHIOMOTO and Michinori KUBO

Department of Medicinal Botany, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kinki University

(Received September 11, 1989. Accepted December 5, 1989.)

Abstract

The effect of water extract from Daio-shachu-gan (Da-Huang-Zhe-Chong-Wan), an anti-chronic oketsu-hozai has been studied using various experimental models of inflammation and hepatitis. The administration for 2 months of Daio-shachu-gan suppressed an increase in connective tissue collagen of the abdominal wall and artery and prolongation of euglobulin lysis time (ELT) in adjuvant-induced arthritic rats. However, Daio-shachu-gan did not inhibit carrageenin-induced acute paw edema and adjuvant-induced edema developed in the primary lesion in rats. And also, Daio-shachu-gan suppressed an increase in connective tissue collagen of abdominal wall and liver in CCl₄-induced chronic hepatitis rats, but was not ineffective for D-galactosamine-induced acute hepatitis.

Key words Kampo-hozai, Daio-shachu-gan, inflammation, Adjuvant-induced arthritis, hepatitis, "oketsu" syndrome, euglobulin lysis time.

Abbreviations Daio-shachu-gan (Da-Huang-Zhe-Chong-Wan), 大黃蟄虫丸; oketsu (Yu-Xue), 瘀血; ELT, euglobulin lysis time.

緒 言

大黃蟄虫丸は『金匱要略』¹⁾に血痺虚勞病の項に収載されている漢方方剤で、動物生薬の蟄虫、水蛭、虻虫などが配剤され、陳久な瘀血症に應用されている。

「瘀血」とは古くからの漢方医学特有の診断名である。「瘀血」を原因的にとらえてみると、感染、外傷による炎症、免疫系の異常による慢性炎症（自己免疫疾患）、ホルモン分泌の異常、ガン、動脈硬化症、高脂血症等があげられる。²⁾これらによって「瘀血」という病態が誘導され、ごく初期のものあれば、多くの要因がかさなり合って作られた陳久な「瘀血」もある。漢方では初期の瘀血症に用いる

三黄丸、桃核承気湯や幅広く用いる桂枝茯苓丸などや、陳久瘀血に用いる大黃蟄虫丸など多くの駆瘀血処方がある。

これら比較的初期の瘀血に應用される桂枝茯苓丸³⁾やそれらに配剤されている牡丹皮⁴⁻⁷⁾桂皮⁸⁾黄芩⁹⁻¹⁰⁾の駆瘀血作用についてはすでに薬理的に検討した。そこで、本報では陳久な瘀血症に應用される大黃蟄虫丸の駆瘀血作用を慢性炎症、血栓症、肝障害モデルにて検討した。

材料と方法

(1) 被験薬物および被験薬液の調整：被験薬物として株式会社ツムラから提供された大黃蟄虫丸の熱水抽出エキス（以下、大黃蟄虫丸とする）を用い

*〒577 東大阪市小若江3-4-1
3-4-1 Kowakae, Higashiosaka, Osaka 577, Japan

Journal of Medical and Pharmaceutical Society for
WAKAN-YAKU 6, 165-177, 1989

た。実験動物に投与する際には、このエキスを 50 あるいは 200 mg/kg をラット体重 100 g 当たり 0.2 ml の容量の水あるいは 0.2% CMC・Na に溶解して経口投与した。

(2) 実験動物：Kw1：Wistar 系雄性ラット (150–170 g, SPF), Jcl：SD 系雌性ラット (170–190 g, SPF) および Kw1；ddY 系雄性マウス (18–20 g, SPF) を用いた。飼育環境は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 50–60%，12 時間明/12 時間暗のサイクルの飼育室で、市販の固形飼料を用い、自由に水を摂取させ、購入後実験に供するまで 1 週間予備飼育した。

(3) カーボンクリアランス法：マウスはカーボンクリアランス法で測定した。マウスに被験体を 1 日 1 回、3 日間経口投与し、最終経口投与 1 時間後にカーボン懸濁液 (Perikan Drawing Ink 17 Black 3 ml, 生理食塩水 4 ml, 3% gelatin 4 ml の混液) 0.1 ml/10 g をマウス尾静脈に注射し、5, 10, 15 分後に眼窩から 25 μl の血液をヘパリン被覆ヘマトクリット毛細管にて採血し、ただちに 0.1% Na_2CO_3 2 ml に希釈溶血させ、波長 675 nm で比色した。マウス食能は下記の式から求めた血中カーボン半減消失時間 ($t_{1/2}$, min) で示した。なお、対照薬には zymosan (生理食塩水に懸濁) を用い、カーボン懸濁液静注 2 日前に 1 回腹腔内投与した。

$$t_{1/2}(\text{min}) = [(t_2 - t_1) / 2] \cdot \text{OD}_{t_1} / (\text{OD}_{t_1} - \text{OD}_{t_2})$$

t_1 ：5 分、 t_2 ：10 分あるいは 15 分、 OD_{t_1} ：5 分後の吸光度、 OD_{t_2} ：10 分あるいは 15 分後の吸光度

(4) カラゲニン浮腫：Wistar 系ラットの後肢足蹠皮下に 1% carrageenin 生理食塩液 0.1 ml/rat を注射し、発生する浮腫を 2, 3 時間後まで経時的に容積法で測定し、浮腫率を算出した。被験体は carrageenin 生理食塩液注射 1 時間前に 1 回経口投与した。対照薬には indomethacin (0.2% CMC・Na に懸濁) 10 mg/kg を用いた。

(5) アジュバント関節炎

1) アジュバント関節炎ラットの誘導および被験体の投与方法：乾燥結核菌 (*Mycobacterium butyricum*) の死菌体をメノウ乳鉢で微粉後、軽鉱物油 (Bayol F) にて 1% 懸濁液を調製した。これをアンプル封入後オートクレーブにて滅菌し、adjuvant として使用した。この adjuvant 0.05 ml を SD 系ラットの右後肢足蹠および尾根から約 3 cm 離れた尾に皮内注射してアジュバント関節炎を惹起した。被験体は adjuvant 注射直後から 1 日 1 回 2 カ月間経口投与した。対照薬には phenylbutazone

(0.2% CMC・Na に懸濁) 50 mg/kg を用いた。

2) 関節炎症状の観察：関節炎症状は右後肢足容積を経時的に 1 カ月間容積法で測定し浮腫率を求めた。

3) ヒドロキシプロリン量の測定：Adjuvant 注射 2 カ月後に採血した直後に右後肢足蹠の表側外皮、腹部皮膚 (白線の中央付近で、白線から約 5 mm 離れた部位)、肝臓及び胸部大動脈を摘出し、組織中のコラーゲンの指標としてヒドロキシプロリンを Woessner の方法¹¹⁾で測定した。

4) ユーグロブリン溶解時間 (ELT) の測定：Adjuvant 注射 2 カ月後にペントバルビタール麻酔下で採血した血液に、氷冷 3.8% sodium citrate を 1/10 量加え、 4°C で $4000 \times g$, 10 分間遠心分離して得た血漿を用いて、ELT を測定した。¹²⁾ 血漿 0.7 ml に氷冷 0.016% acetic acid 9.8 ml (pH 5.6–6.0) を加えて 30 分間放置した。生じた沈渣を $4000 \times g$, 10 分間遠心分離し、血漿ユーグロブリン画分を得た。血漿ユーグロブリン画分は 1/15 N リン酸緩衝液 0.7 ml に溶解した後、thrombin 溶液 (125 U/ml) 0.04 ml を加えて凝固させ、 37°C で incubate して凝固塊が完全に溶解するまでの時間を ELT として測定した。

(6) エンドトキシン誘発実験的血栓症：実験的血栓症は Schoendorf ら¹³⁾の方法に準じた。Wistar 系ラットに被験体を経口投与し、その 1 時間後に endotoxin (生理食塩水に溶解) 0.1 mg/kg をラット尾静脈に注射した。静脈内注射 4 時間後にネブタール麻酔下で腹大静脈から採血し、血小板数を全自動血球計数機 (Coulter Counter Model S-Plus)、フィブリノーゲン量を半自動凝固測定器 (Clotek)、プロトロンビン時間を COAG-A-MATE Dual Channel、血中フィブリン分解産物 (FDP) 量をラテックス凝集反応法 (FDPL Test U) で測定した。また、エンドトキシン静注 12 時間後に肝臓を摘出し、常法に従ってパラフィン包埋し、薄切、hematoxylin-eosin 染色を施し、組織像を光顕的に観察した。対照薬には aspirin (0.2% CMC・Na に懸濁) 200 mg/kg を用いた。

(7) 正常ラットにおける ELT の測定：Wistar 系ラットに被験体を経口投与 1 時間後に採血した血液の ELT を上記の方法で測定した。なお、対照薬には dextran sulphate 10 mg/kg (生理食塩水に溶解) を用いた。

(8) D-ガラクトサミン誘発急性肝炎：Wistar 系ラットに被験体を経口投与 1 時間後に D-galactosamine (生理食塩水に溶解) 400 mg/kg を

腹腔内に投与し、22時間後にペントバルビタール麻酔下で心臓採血し、s-GOT および s-GPT を多項目自動分析装置 (SMAC, 東芝 60S オートアナライザー) で測定した。

(9) 四塩化炭素誘発慢性肝炎: ラットに CCl_4 ガスを1日1回15分間、1週間に3回を8週間吸引させて誘発した。被験体は CCl_4 ガス吸入日から連日経口投与し、8週間後にペントバルビタール麻酔下で心臓採血し、さらに肝臓および腹部皮膚 (白線の中央付近で、白線から約5 mm離れた部位) を摘出し、上記の方法でヒドロキシプロリン量を測定した。

(10) 統計学的処置: 実験結果は平均値±標準誤差であらわし、有意性は Student's *t*-test あるいは Cochran Cox-test を適用した。

結 果

1. マウス食能に及ぼす影響

Table I に示したごとく、大黃蘗虫丸 200 mg/kg 投与群には血中カーボン半減消失時間を有意に短縮させる作用が認められた。対照薬に用いた zymosan 50 mg/kg 投与群にもその作用が認められた。

2. カラゲニン浮腫に及ぼす影響

カラゲニン誘発急性浮腫に対して、対照薬の indomethacin 10 mg/kg 投与群には有意な抑制作用が認められたが、大黃蘗虫丸 50, 200 mg/kg 投与群にはその作用が認められなかった (成績は省略)。

3. アジュバント関節炎に及ぼす影響

1) 関節炎症状: ラットの右後肢および尾部の皮内に adjuvant を注射すると、Fig. 1 に示したごとく右後肢には2日後から著しい浮腫が認められ、その浮腫は6日後に最大 (第1相炎症) になり、その

後浮腫率は若干減少した。しかし、adjuvant 注射10日後から再び浮腫が増大 (第2相炎症) した。大黃蘗虫丸 200 mg/kg 投与群には第2相炎症に対する弱い抑制作用が認められたが、第1相炎症に対してはまったく抑制作用が認められなかった。対照薬の phenylbutazone 50 mg/kg 投与群には第1, 2相炎症を有意に抑制する作用が認められた。

なお、大黃蘗虫丸 50, 200 mg/kg 投与はアジュバント関節炎ラットの体重変動に影響を及ぼさな

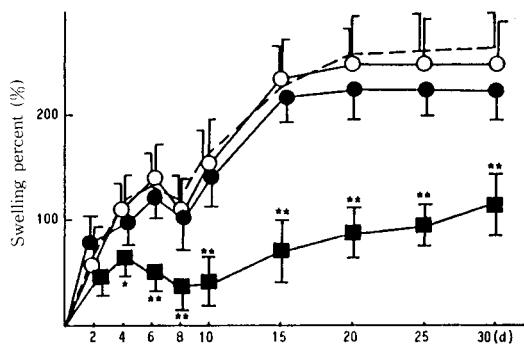


Fig. 1 Effects of water extract from Daio-shachu-gan and phenylbutazone on the paw edema in Adjuvant-induced arthritic rats.

Arthritis was induced by intradermal injection of the complete adjuvant (0.05 ml) containing 10 mg of the heat-killed *Mycobacterium butyricum* in 1 ml of Boyol F into the tail and right hind paw rats. Test substance was orally administered for 30 days and the paw edema was measured. ---; Control, —○—; Daio-shachu-gan 50 mg/kg, —●—; Daio-shachu-gan 200 mg/kg, —■—; Phenylbutazone 50 mg/kg. Each value represents the mean ± S.E. of 11–13 rats. Significantly different from the control, **p* < 0.05; ***p* < 0.01.

Table I Effects of water extract from Daio-shachu-gan and zymosan on clearance-rate of carbon from the circulating blood of mice.

Treatment	Dose (mg/kg)	Route	No. of mice	Clearance-rate of carbon ($t_{1/2}$, min)
Control (water)		<i>p.o.</i>	15	12.90 ± 0.95
Daio-shachu-gan ^{a)}	50	<i>p.o.</i>	12	10.89 ± 0.62
	200	<i>p.o.</i>	12	9.99 ± 0.52*
Control (saline)		<i>i.p.</i>	15	11.95 ± 0.72
Zymosan ^{b)}	50	<i>i.p.</i>	13	8.65 ± 0.45*

a) : Carbon clearance test was performed 1 hr after the administration of Daio-shachu-gan (one time/day for 3 days).

b) : Carbon clearance test was performed 2 days after the administration of zymosan. Each value represents the mean ± S.E.

Significantly different from the control, **p* < 0.05.

Table II Effects of water extract from Daio-shachu-gan and phenylbutazone on the content of hydroxyproline in Adjuvant-induced arthritic rats.

Treatment	Dose (mg/kg)	Route	No. of rats	Hydroxyproline ($\mu\text{g}/\text{mg}$ wet tissue)			
				Abdominal wall	Foot skin	Liver	Artery
Normal		<i>p.o.</i>	8	6.84 $\pm$ 0.59	16.81 $\pm$ 0.69	0.49 $\pm$ 0.02	7.34 $\pm$ 0.54
Control		<i>p.o.</i>	13	9.05 $\pm$ 0.43	18.82 $\pm$ 0.63	0.50 $\pm$ 0.02	12.02 $\pm$ 0.79
Daio-shachu-gan	50	<i>p.o.</i>	14	7.22 $\pm$ 0.61*	17.47 $\pm$ 0.77	0.46 $\pm$ 0.02	12.13 $\pm$ 0.65
	200	<i>p.o.</i>	11	7.06 $\pm$ 0.52**	18.50 $\pm$ 1.03	0.48 $\pm$ 0.01	10.29 $\pm$ 0.80
Phenylbutazone	50	<i>p.o.</i>	11	9.01 $\pm$ 0.52	16.99 $\pm$ 0.89	0.51 $\pm$ 0.01	12.03 $\pm$ 0.85

Arthritis was induced by intradermal injection of the complete adjuvant (0.05 ml) containing 10 mg of the heat-killed *Mycobacterium butyricum* in 1 ml of Boyol F into the tail and right hind paw of rats. Test substance was orally administered for 60 days and the hydroxyproline contents of abdominal wall, foot skin, liver and artery were measured. Each value represents the mean $\pm$ S.E. Significantly different from the control, * p < 0.05; ** p < 0.01.

かった。

2) 右後肢皮下, 腹部皮下, 肝臓, 胸部大動脈壁中ヒドロキシプロリン量: Adjuvant 注射 2 カ月後の右後肢皮下, 腹部皮下, 肝臓, 胸部大動脈壁中のヒドロキシプロリン量を測定すると, Table II に示すように, adjuvant 処理群のヒドロキシプロリン量は無処置群のそれらに比して肝臓を除いたいずれの部位においても有意に増加した。大黃蘗虫丸 200 mg/kg 投与群には, 腹部皮下におけるヒドロキシプロリンの増加を有意に抑制する作用が認められ, さらに胸部大動脈壁においてもヒドロキシプロリン量の増加を抑制する傾向が認められた。一方, 結合組織の増加に及ぼす phenylbutazone の影響を検討したが, phenylbutazone 50 mg/kg 投与群には右後肢皮下におけるヒドロキシプロリン量の増加を抑制する傾向が認められたが, 他の部位では抑制作用が認められなかった。

3) ELT: Fig. 2 に示すように, adjuvant 処理群の ELT は無処置群のそれに比して有意に延長した。大黃蘗虫丸 50, 200 mg/kg 投与群には用量依存的に ELT の延長を抑制する作用が認められた。一方, phenylbutazone 50 mg/kg 投与群には ELT の延長を抑制する作用が認められなかった。

4. エンドトキシン誘発血栓症に及ぼす影響

1) 血液像: ラットにエンドトキシンを静注すると, 血小板数, フィブリノーゲン量が減少し, プロトロンビン時間が延長し, フィブリン分解産物量が増加した。大黃蘗虫丸 50, 200 mg/kg 投与群にはこれらの血液像の変動を抑制する作用が認められなかった。対照薬の aspirin 100, 200 mg/kg 投与群には血小板数, フィブリノーゲン量の減少を有意に抑制する作用が認められた (成績は省略)。

2) 肝臓の組織像: エンドトキシン静注 12 時間後に摘出した肝臓の組織像を光顕的に観察すると,

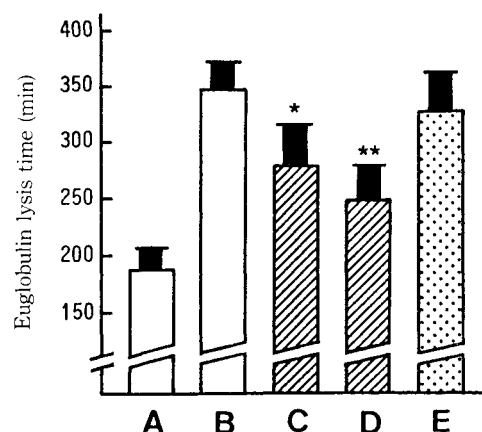


Fig. 2 Effects of water extract from Daio-shachu-gan and phenylbutazone on the euglobulin lysis time (ELT) in Adjuvant-induced arthritic rats.

Arthritis was induced by intradermal injection of the complete adjuvant (0.05 ml) containing 10 mg of the heat-killed *Mycobacterium butyricum* in 1 ml of Boyol F into the tail and right hind paw of rats. Test substance was orally administered for 60 days and the ELTs were measured. A; Normal, B; Control, C; Daio-shachu-gan 50 mg/kg, D; Daio-shachu-gan 200 mg/kg, E; phenylbutazone 50 mg/kg. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 8–14 rats. Significantly different from control, * p < 0.05; ** p < 0.01.

Fig. 3 に示した出血性壊死像が多数観察された。肝組織 1 cm² 当たりの数を測定し, その結果は Fig. 4 に示した。対照群には 15.3 $\pm$ 5.3 個/cm² の出血性壊死像が観察されたが, 大黃蘗虫丸 50, 200 mg/kg 投与群には出血性壊死を有意に抑制する作用が認められた。

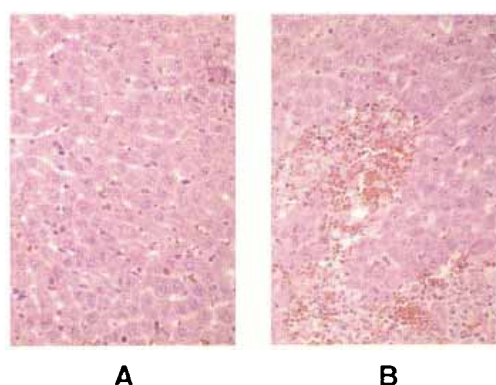


Fig. 3 Rat liver formed the hemorrhagic necrosis induced by endotoxin.

The liver was removed 12 hr after an *i.v.* injection of endotoxin (0.1 mg/kg), and cryostat section was prepared. The section was stained with hematoxylin-eosin for histological examination. A ; Normal, B ; Control ($\times 125$).

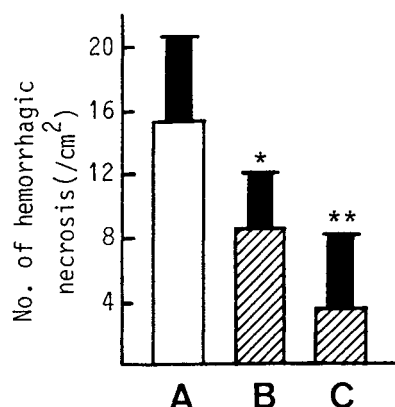


Fig. 4 Effect of water extract from Daio-shachu-gan on hemorrhagic necrosis of endotoxin induced disseminated intravascular coagulation (DIC) in rats.

The liver was removed 12 hr after an *i.v.* injection of endotoxin (0.1 mg/kg), and number of hemorrhagic necrosis was measured. A ; Control, B ; Daio-shachu-gan 50 mg/kg, C ; Daio-shachu-gan 200 mg/kg. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 10–14 rats. Significantly different from control, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

5. 正常ラットの ELT に及ぼす影響

Fig. 5 に示したごとく、正常ラットの ELT は 176 ± 31 分に対して、大黃蘗虫丸 50, 200 mg/kg 投与群には ELT を有意に短縮させる作用が認めら

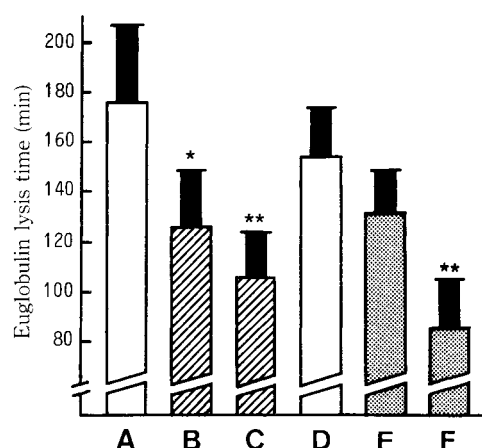


Fig. 5 Effects of water extract from Daio-shachu-gan and dextran sulphate on the euglobulin lysis time (ELT) in normal rats.

ELTs were measured 1 hr after a *p.o.* administration of Daio-shachu-gan or an *i.v.* administration of dextran sulphate. A ; Normal (water), B ; Daio-shachu-gan 50 mg/kg, C ; Daio-shachu-gan 200 mg/kg, D ; Normal (saline), E ; Dextran sulphate 1 mg/kg, F ; Dextran sulphate 10 mg/kg. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 10 rats. Significantly different from the normal, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

れた。対照薬の dextran sulphate も 10 mg/kg の投与量で有意に ELT を短縮させた。

6. D-ガラクトサミン誘発急性肝炎に及ぼす影響

ラットに D-galactosamine を腹腔内投与すると、s-GOT、s-GPT 値が著しく増加した。大黃蘗虫丸 50, 200 mg/kg 投与群にはその増加を抑制する作用が認められなかった (成績は省略)。

7. 四塩化炭素誘発慢性肝炎に及ぼす影響

1) 血液像：ラットに CCl_4 ガスを 8 週間吸引させると、s-GOT、s-GPT 値が著しく増加した。大黃蘗虫丸 50, 200 mg/kg 投与群には、その増加を抑制する作用が認められなかった (成績は省略)。

2) 腹部皮下、肝臓中ヒドロキシプロリン量：四塩化炭素誘発慢性肝炎ラットの腹部皮下、肝臓中のヒドロキシプロリン量を測定すると、Table III に示すように、慢性肝炎ラットのヒドロキシプロリン量は無処置群のそれらに比して有意に増加した。大黃蘗虫丸 200 mg/kg 投与群には腹部皮下および肝臓におけるヒドロキシプロリン量の増加を有意に抑制する作用が認められた。

Table III Effect of water extract from Daio-shachu-gan on the content of hydroxyproline in CCl₄-induced chronic hepatic rats.

Treatment	Dose (mg/kg)	Hydroxyproline (μ g/mg wet tissue)	
		Abdominal wall	Liver
Normal		0.63 $\pm$ 0.03	9.24 $\pm$ 1.30
Control		1.76 $\pm$ 0.11	17.47 $\pm$ 1.22
Daio-shachu-gan	50	1.77 $\pm$ 0.18	13.88 $\pm$ 0.60*
	200	1.35 $\pm$ 0.08**	13.79 $\pm$ 0.66*

Chronic hepatitis was induced by CCl₄. Test substance was orally administered for 8 weeks and the hydroxyproline contents of abdominal wall and liver were measured. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 10 rats. Significantly different from the control, * p < 0.05; ** p < 0.01.

考 察

大黃蘆虫丸は古来漢方用法で「瘀血症」に用いられたことから、その駆瘀血薬理活性を明らかにするために、種々の実験モデルを用いて検討した。

まず、大黃蘆虫丸エキス投与による初期感染および炎症モデルへの影響を検討した。生体に異物が侵入すると、マクロファージ、白血球が異物貪食する。これが、初期感染に対する生体の防御システムである。実験的にはマウスにカーボン懸濁液を静注し、血中からの半減消失時間を指標に異物貪食能を測定した。大黃蘆虫丸を3日間前投与し、カーボンクリアランスを行ったところ、血中カーボン半減消失時間が有意に短縮された。

高等動物の生体防御システムは上記した異物貪食反応と、下等動物にはない炎症反応がある。後者の反応は侵入した異物や傷害を処理するために、炎症反応がI, II, III期へと進行し、異物、傷害を処理、治癒する。そこで、炎症I~II期のモデルであるカラゲニン浮腫に及ぼす大黃蘆虫丸の影響を検討したが、有効性が認められなかった。

次に慢性炎症に及ぼす影響はラットアジュバント関節炎にて検討した。ラットにadjuvantを注射すると、6日後にピークを示す浮腫が表れ、以後若干炎症は治癒した。これは免疫反応が関与しない初期炎症である。大黃蘆虫丸はこの初期炎症に対して無効であった。一方、初期の瘀血に応用される三黄丸、桃核承気湯あるいは桂枝茯苓丸に配剤されている黄芩⁹⁾、桃仁¹⁴⁾、牡丹皮⁴⁾はカラゲニン誘発急性浮腫やアジュバント関節炎ラットの関節炎症状に対して有効性が見い出されている。

さらに炎症反応が進行し、免疫系の反応も関与する慢性化したものが、adjuvant注射10日目から再

炎する浮腫（第2相炎症、adjuvant関節炎）である。炎症部位は起炎剤注入部位である右後肢、尾以外の部位でも炎症像が観察されるようになる。このアジュバント関節炎に対して大黃蘆虫丸は有意ではないが、若干有効性を示すようになった。著者らはアジュバント関節炎ラットを長期（2~3カ月間）に観察すると、「瘀血」と思われる種々の随伴症状が誘発されることを見い出している¹⁵⁾。そこで、大黃蘆虫丸エキスの投与期間をさらに1カ月間延長し、誘発されてくる瘀血症状と思われる随伴症状に及ぼす影響を検討した。また、瘀血症を漢方医学的に診断するひとつの指標に生体の各所に形成される結合組織の増殖がみられるといわれている。このような観点からアジュバント関節炎ラット（誘導後2カ月後）の炎症足皮下および腹部皮下組織、肝臓、胸部大動脈を摘出し、それら組織中のコラーゲン量の指標としてヒドロキシプロリン量を求めた。また、「瘀血症」と密接に関連する末梢循環に及ぼす影響を見るために、血液の線溶活性をELT法にて検討した。アジュバント関節炎ラットは、起炎剤を注入した右後肢足蹠皮下および腹部皮下、胸部大動脈においてヒドロキシプロリン量が増加していた。また、ELTは著しく延長し、アジュバント関節炎ラットにおいて血栓溶解能の低下が推察された。大黃蘆虫丸投与群には腹部におけるヒドロキシプロリン量の増加を有意に抑制する作用が認められ、さらにその傾向は大動脈においても認められた。また、ELTの延長に対しても抑制する作用が認められた。一方、アジュバント関節炎ラットの関節炎症状に対して抑制作用を示したphenylbutazone投与群にはヒドロキシプロリン量の増加およびELTの延長を抑制する作用が見い出せなかった。すなわち、phenylbutazoneは炎症局所における抗炎剤ではあるが、全身的に誘発される瘀血と思われる随伴症

状にはその効果が発揮しえないものと思われる。

次に、瘀血病態は種々の原因による末梢循環障害もその病態の一側面を表していると考え、大黃廬虫丸の駆瘀血作用の解明を血液の凝固—線溶系にて検討した。その結果、大黃廬虫丸は正常ラットのELTを短縮させたが、エンドトキシン誘発実験的血栓症においては凝固因子の減少を抑制する作用が認められなかった。しかし、endotoxinの静注によって誘発された肝における出血性壊死に対しては有効性が認められた。

さらに、慢性炎症と肝障害を起こす機構の直接的な関係は現段階では見い出されていないが、本研究においてアジュバント関節炎ラットに誘発された腹部における結合組織中のコラーゲン量の指標として測定したヒドロキシプロリン量の増加（漢方医学的に肝臓障害時の指標とする胸脇苦満と思われる現象²⁾）を大黃廬虫丸が抑制し、またendotoxin誘発実験的血栓症ラットにおいて誘発された肝障害を抑制したことは、肝臓に対する直接的な作用によるものか、あるいは障害性因子に対する作用によるものかを明らかにするために肝障害モデルに対する大黃廬虫丸の影響を、急性肝障害モデルであるD-ガラクトサミン誘発急性肝炎および結合組織の増殖を誘発する四塩化炭素誘発慢性肝炎にて検討した。

まず、大黃廬虫丸はD-ガラクトサミン誘発急性肝炎に対して無効であった。また、四塩化炭素誘発慢性肝炎に対してもs-GOT、s-GPT値の上昇を抑制する作用が見い出せなかった。しかし、肝炎が誘発されると、肝上腹部における皮下結合組織の増殖がみられることから、四塩化炭素誘発慢性肝炎ラットの腹部皮下および肝臓における組織中のコラーゲン量の指標としてヒドロキシプロリン量を測定したところ、大黃廬虫丸投与群には慢性炎症時に見られたヒドロキシプロリン量の増加を有意に抑制する作用が認められた。

以上のことから、古来陳久瘀血に応用された大黃廬虫丸の駆瘀血薬理活性を検討したところ、大黃廬虫丸は慢性炎症時に誘発される結合組織の増殖を特異的に抑制し、さらに線溶活性化作用を示した。しかし、結合組織の増殖を抑制する作用は実験モデルによって部位が異なったことから、その詳細な作用機序は今後検討する予定である。

謝 辞

本研究を行うにあたり、ご援助賜った株式会社ツムラに深謝致します。

文 献

- 1) 張 仲景: “新校金匱要略,” 五書堂, 京都, 卷上, 27丁, 1858.
- 2) 久保道徳: 駆瘀血剤に含まれる生薬とその薬理, 治療学 **10** (Supple.), 69-74, 1983.
- 3) 久保道徳, 松田秀秋, 長尾孝治, 谿 忠人, 有地 滋: 桂枝茯苓丸の全身状態の修復作用, 和漢薬シンポジウム **16**, 171-182, 1983.
- 4) 有地 滋, 久保道徳, 松田秀秋, 谿 忠人, 津永佳世子, 吉川雅之, 北川 勲: 牡丹皮の研究 (第3報) 牡丹皮の抗炎症作用 (その1), 生薬誌 **33**, 178-184, 1979.
- 5) 久保道徳, 松田秀秋, 泉 佐和, 谿 忠人, 有地 滋, 吉川雅之, 北川 勲: 牡丹皮の研究 (第6報) 抗血栓形成作用について (その1), 生薬誌 **36**, 70-77, 1982.
- 6) 久保道徳, 松田秀秋, 松田玲子: 牡丹皮の研究 (第8報) 抗血栓形成作用について (その2), 生薬誌 **38**, 307-312, 1984.
- 7) 久保道徳, 長尾孝治, 松田秀秋, 谿 忠人, 有地 滋, 北川 勲: 牡丹皮の研究 (第9報) マウス食能に及ぼす影響 その1, 薬誌 **105**, 26-32, 1985.
- 8) Matsuda, H., Matsuda, R., Fukuda, S., Shiomoto, H. and Kubo, M.: Anti-thrombotic actions of 70% methanolic extract and cinnamic aldehyde from Cinnamonomi Cortex. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 1275-1280, 1987.
- 9) Kubo, M., Matsuda, H., Tanaka, M., Kimura, Y., Okuda, H., Higashino, M., Tani, T., Namba, K. and Arichi, S.: Studies on Scutellariae Radix. VII. Anti-arthritis and anti-inflammatory actions of methanolic extract and flavonoid components from Scutellariae Radix. *Chem. Pharm. Bull.* **32**, 2724-2729, 1984.
- 10) Kubo, M., Matsuda, H., Tani, T., Arichi, S., Kimura, Y. and Okuda, H.: Studies on Scutellariae Radix. XII. Anti-thrombotic actions of various flavonoids from Scutellariae Radix. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 2411-2415, 1985.
- 11) Woessner, J.F.: The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Archiv. Biochem. Biophys.* **93**, 440-447, 1961.
- 12) Kaulla, K.N. and Schultz, R.L.: Methods for the evaluation of human fibrinolysis. *Am. J. Clin. Path.* **29**, 104-112, 1958.
- 13) Schoendorf, T.H., Rosenberg, M. and Beller, F.K.: Endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in nonpregnant rats. *Am. J. Path.* **65**, 51-58, 1971.
- 14) 有地 滋, 久保道徳, 谿 忠人, 永本典生, 野口秀人, 中村秀雄, 宇野 準, 西村温樹: 桃仁の研究 (第1報) 抗炎症活性ならびに鎮痛活性を有する活性成分の検索, 生薬誌 **40**, 129-138, 1986.
- 15) 久保道徳, 寒川慶一, 松田秀秋: 薬用人参の薬理学的研究 (第10報) 紅参エキス長期投与によるラットアジュバント関節炎への影響, 和漢医薬学会誌 **6**, 45-52, 1989.