

マウスおよびラットにおける麻黄附子細辛湯の抗侵害受容作用

池田 孔巳*, 尾山 力, 滝 昌則, 鈴木 康之, 野口 将道, 大宮 雄司, 後藤 和宏, 小松 靖弘

(株)ツムラ 中央研究所 疼痛研究所

Antinociceptive effect of Mao-bushi-saishin-to in mice and rats

Yoshiki IKEDA*, Tsutomu OYAMA, Masanori TAKI, Yasuyuki SUZUKI, Masamichi NOGUCHI, Yuji OMIYA, Kazuhiro GOTO, Yasuhiro KOMATSU

Central Research Laboratory, Pain Research Laboratory, Tsumura & Co.

(Received August 29, 1995. Accepted December 22, 1995.)

Abstract

Kampo medicines, "Mao-bushi-saishin-to" (TJ-127) was investigated in mice and rats for antinociceptive effects. TJ-127 showed antinociceptive effects on acetic acid induced writhing (0.25-0.5 g/kg), tail flick (1-2 g/kg), tail-pressure (0.7-4 g/kg) and repeated cold stress model (hyperalgesic state) mice (0.35-2 g/kg). In addition, TJ-127 demonstrated antinociceptive effects on both acute pain induced by carrageenin (2-3 g/kg) and adjuvant-induced arthritic pain in chronic inflammatory model (0.35-0.7 g/kg). Above mentioned results suggest that TJ-127 has an analgesic effect.

Key words antinociception, Mao-bushi-saishin-to.

Abbreviations RCS; Repeated cold stress, NTR; nociceptive threshold ratio, Mao-bushi-saishin-to (Ma-Huang-Fu-Zi-Xi-Xin Tang), 麻黄附子細辛湯.

緒 言

麻黄附子細辛湯は、一日あたり麻黄4g, 細辛3g, 修治ブシ末1gより煎じて作られる漢方処方(ヒト; 1.5g/day)であり, 傷寒論を出典とするものである。その主な効能, 効果は悪寒, 微熱, 全身倦怠, 頭痛, めまい, 四肢に疼痛冷感あるものの症状(感冒, 気管支炎)などの改善である¹⁾。

臨床的な応用としては, アレルギー性鼻炎の治療薬²⁾として使用され, その作用機序についてはヒスタミン遊離抑制作用³⁾ や5-リボキシゲナーゼ活性抑制作用⁴⁾を有することが報告されている。最近では難治性疾患の一つである帯状疱疹後神経痛の有効例が報告⁵⁾されている。

著者らはこの漢方処方が, 消炎あるいは鎮痛効果が期待される3つの生薬からなる^{6)*}ことに注目し, 各種の鎮痛試験および病態モデルを用いて検討した。

材料と方法

(1) **実験動物**: 実験動物には4週齢, 体重20g前後のddy系雄性マウス及び4週齢, 体重120g前後(カラゲニン炎症疼痛)および7週齢, 体重200g前後(アジュバント関節炎疼痛)のSD系雄性ラットを用いた。購入後の動物は, 飼育室にて水及び固形資料(オリエンタル酵母)を自由に摂取させ, 室温23°C±2%, 湿度55±10%の条件下, 12時間明/12時間暗のサイクルで約1週間の予備飼育の後, 試験に用いた。薬物は経口投与とし, 各動物は薬物投与前に約20時間絶食して使用した。

(2) **被験薬物と試薬**: 被験薬物には麻黄附子細辛湯エキス末(以下TJ-127, (株)ツムラ: 東京)を用いた。TJ-127は麻黄, 細辛, 修治ブシ末の3種の生薬からなるものである。

TJ-127を用時5%アラビアゴム溶液に懸濁し, 実験動物に経口投与した。試薬及び対照薬はジクロフェナッ

*〒300 11 茨城県稲敷郡阿見町吉原3586
3586, Yoshiwara, Amimachi, Inashiki-gun, Ibaraki
300 11, Japan

ク(Sigma:USA), 塩酸モルヒネ(武田薬品工業:大阪) アラビアゴム, 酢酸(和光純薬工業:大阪)を用いた。

(3) 化学的刺激による抗侵害受容活性の測定: ddy 系雄性マウスに被験薬物投与後(p.o.)60分, 0.7%酢酸/生理食塩液を10 ml/kgの割合で腹腔内投与し, 酢酸投与10分間のライジング数を測定した。

(4) 熱刺激による抗侵害受容活性の測定: ddy 系雄性マウスを用い, 尾の先端から1 cmの部位を黒色にマークし, tail-flick装置(型式 Biological Research Apparatus 21025, Ugo Basile, Comerio, Italy)を用いてマーク部分に赤外線照射し, 尾を振るまでの時間を測定した。なお, 赤外線照射電圧は12 Vとし, cut-off-timeは15秒とした。以上の条件で, 被験薬物投与前の反応時間を3回測定し, その平均値を0分の侵害受容閾値とし, 30分, 60分, 90分, 120分, 180分に反応時間を測定した。

次の式より maximum possible effect (MPE, %) を求めた。

$$\text{MPE}(\%) = (\text{POST} - \text{PRE}) \div (\text{COT} - \text{PRE}) \times 100$$

POST: 薬物投与後の各時間における侵害受容閾値(秒)

PRE: 薬物投与前の侵害受容閾値(秒)

COT: CUT-OFF-TIME=15秒

(5) 圧刺激による抗侵害受容活性の測定: ddy 系雄性マウスを用い, 圧刺激装置(Analgesy-meter: Ugo Basile, Comerio, Italy)を用いてマウスの尾(尾根部より1 cm)の侵害受容閾値を測定した。測定日前日には, 5回侵害受容閾値を測定し, 閾値が80~120 gのマウスを実験に供した。

被験薬投与前に30分間隔で3回侵害受容閾値を測定し, それらの平均値を投与0分の侵害受容閾値とした。その後30分, 60分, 90分, 120分, 180分における侵害受容閾値を測定し, 結果を薬物投与前の侵害受容閾値に対する薬物投与後の侵害受容閾値の比(nociceptive threshold ratio, %, NTR)で表した。

$$\text{NTR}(\%) = (\text{薬物投与後の侵害受容閾値} \div \text{薬物投与前の侵害受容閾値}) \times 100$$

(6) 反復低温ストレス(RCS)法による抗侵害受容活性の測定: RCS負荷は, 倉石らの方法¹⁰⁾に準じて行った。すなわち, 16時30分から翌日の10時までマウスを4°Cの低温環境に置き, 翌朝の10時から16時30分まで30分ごとに高温環境(24°C)と低温環境(4°C)に交互に移動した。以上を3日間繰り返し, ストレス負荷開始から4日目の10時より実験を行った。

このようにして作製した痛覚過敏を示す病態モデルを用いて被験薬物の鎮痛効力の検定を行った。侵害受容閾値の測定は, 前記(5)圧刺激に基づく活性の抗侵害受容

活性測定に従って行った。RCS負荷前に約1時間間隔で3回侵害受容閾値を測定し, その平均値をRCS負荷前の侵害受容閾値とした。またRCS負荷後, 薬物投与前に3回侵害受容閾値を測定し, 被験薬物投与後30分, 60分, 90分, 120分, 180分に侵害受容閾値を測定した。

測定値より, 次の式によってRCS負荷前の侵害受容閾値に対する薬物投与後の侵害受容閾値の比(nociceptive threshold ratio, % NTR)を求め, 鎮痛効力を評価した。

$$\text{NTR}(\%) = (\text{薬物投与後の侵害受容閾値} \div \text{RCS負荷前の侵害受容閾値}) \times 100$$

(7) 急性炎症疼痛による抗侵害受容活性の測定¹⁰⁾: SD系雄性ラットを用いて, analgesy meter(UNICOM社製, TK-201)を使用して行った。実験前1時間間隔で3回右後肢の侵害受容閾値を測定後, 1%カラゲニン溶液(イーストの代用)を0.1 ml/ratの割合で右後肢足踵皮下に注入し, その2時間後に侵害受容閾値を測定した。被験薬物を投与後, 0.5, 1, 2, 3および4時間まで右後肢の侵害受容閾値を測定した。結果は, 薬物投与前の侵害受容閾値に対する薬物投与後の侵害受容閾値の比(nociceptive threshold ratio, %, NTR)で表した。

(8) 慢性炎症疼痛による抗侵害受容活性の測定¹¹⁾: SD系雄性ラットを用いて, 右後肢足踵皮内に流動パラフィンに懸濁した0.5% mycobacterium butyricumを0.1 ml/ratの割合で注入し, 多発性関節炎を発症させた。アジュバント接種前に侵害受容閾値を測定し, 以後3, 7, 10, 14, 17, 22日目に侵害受容閾値を測定した(薬物投与1時間後)。侵害受容閾値の測定は, analgesy meter(UNICOM社製, TK-201)による右後肢の圧刺激において行った。なお, 薬物は1日1回22日間反復投与した。

(9) 統計処理: 上記結果に対する有意差検定はScheffe F-testを用い, $p < 0.05$ を統計的有意差とした。

結 果

1. 酢酸ライジング法による抗侵害受容作用

ライジング数は対照群(23.4±2.2回)を100%とした時に, TJ-127の0.25 g/kg投与群(13.3±0.9回), および0.5 g/kg投与群(11.6±0.9回)では共に約40%の有意($p < 0.001$)な抑制が認められた。この作用の程度はジクロフェナック5 mg/kg投与群(10.9±0.8回)とほぼ同等であった(Fig. 1)。

2. テールフリック法による抗侵害受容作用

TJ-127投与群は熱刺激において用量依存的(投与30分後対照群: 0.4±1.2%, 0.35 g/kg: 6.8±1.3%, 1 g/kg: 9.2±1.5%, 2 g/kg: 16.5±2.8%)な抗侵害受容作

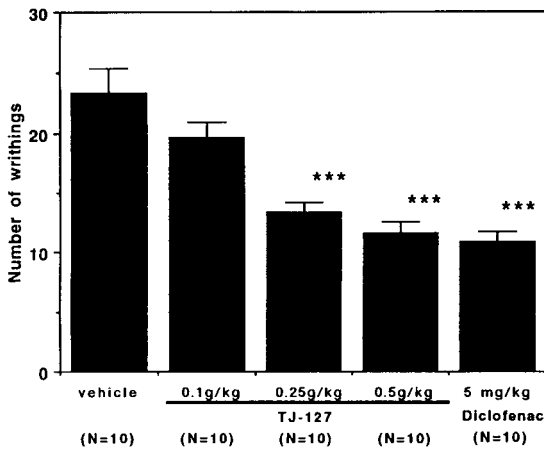


Fig. 1 Antinociceptive effect of TJ-127 acetic acid induced writhing in mice. Significantly different from the vehicle group, *** $p < 0.001$. Values are means \pm S.E.

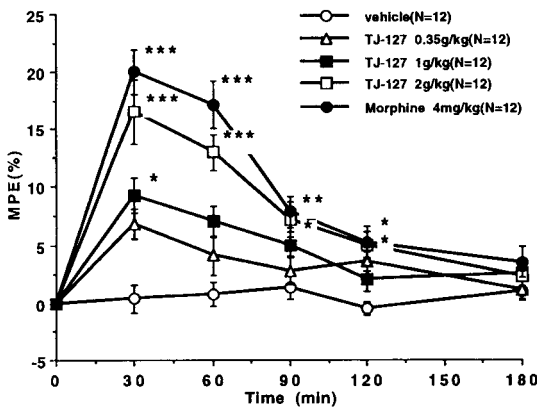


Fig. 2 Antinociceptive effect of TJ-127 on tail-flick test in mice. Significantly different from the vehicle group, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Values are means \pm S.E.

用を示した。また、その作用は、投与後30分がピーク時間であった。また、モルヒネ4mg/kg投与群は投与後30分をピーク(20.0 \pm 1.9%)に2時間後まで有意な抗侵害受容作用を示した。(Fig. 2)。

3. 尾圧法による抗侵害受容作用

TJ-127投与群は圧刺激において用量依存的(投与60分後対照群: 99.9 \pm 1.8%, 0.7g/kg: 115.1 \pm 2.8%, 1.5g/kg: 121.5 \pm 2.4%, 3g/kg: 135.1 \pm 4.1%, 4g/kg: 144.0 \pm 4.1%)な抗侵害受容作用を示した。また、その作

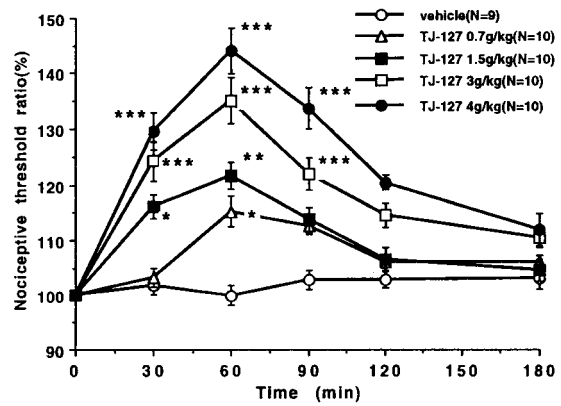


Fig. 3 Antinociceptive effect of TJ-127 on tail-pressure test in non-RCS mice. Significantly different from the vehicle group, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Values are means \pm S.E.

用のピークは投与後60分であり、作用持続(有意な閾値上昇)は、投与後120分まで続いた(4g/kg投与群)(Fig. 3)。なお、今回マウスでの実験における最高用量である4g/kgは自発運動やその他運動機能に対しては外見上対照群と比較して何ら変化はなかった。

4. 反復低温ストレス(RCS)法による抗侵害受容作用

RCSを負荷する事により侵害受容閾値は、負荷前を100%とした時にいずれの群も約72%に低下した。この痛覚過敏マウスにTJ-127を投与すると用量依存的(投与60分後対照群: 74.9 \pm 2.2%, 0.35g/kg: 103.2 \pm 2.5%, 1g/kg: 107.2 \pm 1.9%, 2g/kg: 112.4 \pm 2.9%)な抗侵害受容作用を示した。また、その作用のピークは投与後60分であった(Fig. 4)。

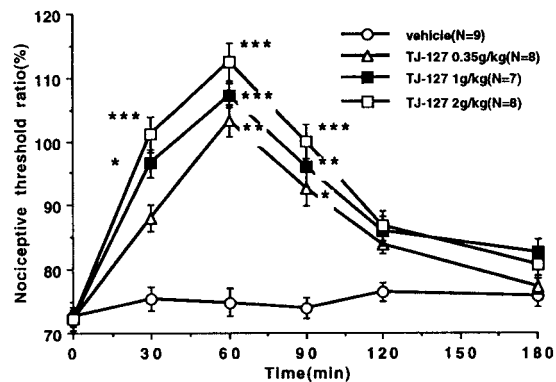


Fig. 4 Antinociceptive effect of TJ-127 on tail-pressure test in RCS mice. Significantly different from the vehicle group, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Values are means \pm S.E.

5. カラゲニン炎症疼痛による抗侵害受容作用

カラゲニンを注射2時間後には浮腫が起り始め、侵害受容閾値はカラゲニン注射前を100%とした時に約50%~60%に低下した。この急性炎症痛覚過敏ラットにTJ-127の2g/kgを投与(143.9±18.7%)すると、30分後に侵害受容閾値は対照群(47.3±1.7%)と比較して有意に上昇した。3g/kg投与(166.2±13.8%)でも侵害受容閾値は対照群と比較して有意に上昇した。また、その作用のピークは投与後30分であり、持続は4時間後まで続いた(Fig.5)。なお、今回ラットでの実験における最高用量である3g/kgは自発運動やその他運動機能に対しては外見上対照群と比較して何ら変化はなかった。

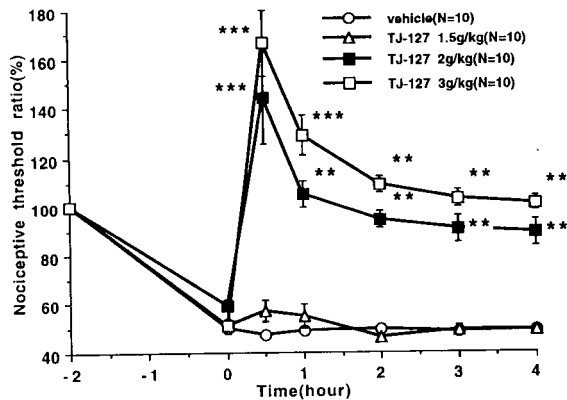


Fig. 5 Antinociceptive effect of TJ-127 on carrageenin-induced acute inflammation in rats. Significantly different from the vehicle group, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Values are means \pm S.E.

6. アジュバント関節炎疼痛による抗侵害受容作用

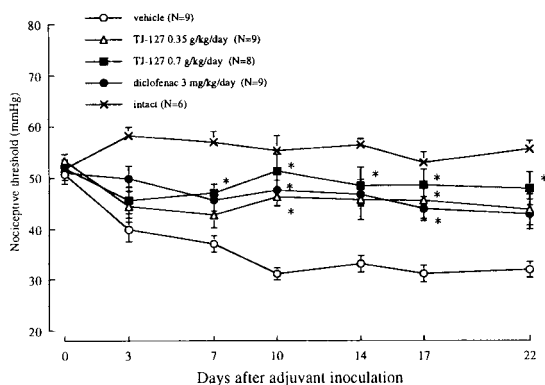


Fig. 6 Antinociceptive effect of TJ-127 on adjuvant arthritic rats. Significantly different from the vehicle group, * $p < 0.05$. Values are means \pm S.E.

正常群の侵害受容閾値に対して、アジュバント接種対照群の侵害受容閾値は、アジュバント接種後3日目を以降22日目まで有意($p < 0.001$)に低下した。この接種ラットでTJ-127の0.35g/kg/day投与群では、アジュバント接種後10および17日目において対照群に対して有意($p < 0.05$)な侵害受容閾値の上昇が認められた。TJ-127の0.7g/kg/day投与群でもアジュバント接種後7, 10, 14, 17, および22日目において対照群に対して有意($p < 0.05$)な侵害受容閾値の上昇が認められた。また、ジクロフェナック3mg/kg/day投与群は、アジュバント接種後10および17日目において対照群に対して有意($p < 0.05$)な侵害受容閾値の上昇が認められた(Fig.6)。

考 察

麻黄附子細辛湯(TJ-127)は麻黄、附子、細辛3つの生薬から構成されている。麻黄には抗炎症作用、抗アレルギー作用などがある。附子には鎮痛作用、抗炎症作用などがあり⁸⁾、細辛には抗アレルギー作用、鎮咳作用などがある⁶⁾。今回我々は麻黄附子細辛湯の鎮痛作用を検討するために、化学的、熱および圧刺激の抗侵害受容試験および各種病態モデルを用いて抗侵害受容検定を行った。

その結果、化学的刺激である酢酸ライジング法で、今回の各種試験法では最も低い用量(0.25g/kg)で抗侵害受容作用が発現した。これはTJ-127に配合されている附子あるいは附子成分であるメサコニチンは下行性抑制系に作用して抗侵害受容作用を示す報告⁸⁾がある事から、TJ-127の酢酸ライジングに対する抗侵害受容作用は下行性抑制系に作用している可能性が示唆される。さらに、ジクロフェナックの様な非ステロイド性消炎鎮痛薬はシクロオキシゲナーゼ阻害によって消炎鎮痛作用を示すが、TJ-127は抗炎症作用つまり、発痛物質であるヒスタミンの遊離抑制作用³⁾や発痛増強に間接的に関与すると言われる¹²⁻¹¹⁾ロイコトリエンB4の生成酵素である5-リポキシゲナーゼ活性を抑制¹⁾する末梢性作用も一部関与しているのではないかと推察される。モルヒネなどの様な中枢性の鎮痛薬とはタイプを異にするのかも知れない。

熱刺激であるテールフリック法でも、モルヒネ4mg/kgには及ばないもののTJ-127は抗侵害受容作用を示した。

圧刺激では、TJ-127はRCSを負荷しない正常動物で尾圧法を行った結果、抗侵害受容作用は認められたが、対照群と比較して約45%の閾値上昇するためには4g/kgの用量が必要であった。これに対して、RCSを負荷した痛覚過敏状態の動物で尾圧法を行うと、対照群と比較

して約45%の閾値上昇するためには2g/kgの用量、つまり正常動物での半分の用量で抗侵害受容作用を示した。ところで、痛みはノルアドレナリン系、セロトニン系あるいはエンケファリン系などの下行性抑制系の機能低下が痛覚過敏の一因と考えられている¹⁵⁾。一方、反復低温ストレスは副交感神経緊張亢進または交感神経緊張低下の病態であり¹⁶⁾反復低温ストレスによる痛覚過敏には交感神経緊張低下¹⁷⁾や中枢神経系の抑制¹⁸⁾などが関与していると考えられている。TJ-127に配合されている附子のRCSにおける抗侵害受容作用の一因として下行性抑制系を介して発現することが報告されている⁸⁾。このことからRCSにおけるTJ-127の抗侵害受容作用がRCSを負荷しない正常動物よりも顕著であったことは、RCSによって抑制された下行性抑制系にも何らかの影響をおよぼしている可能性が推察される。

一方、臨床の場では炎症をともなった疼痛がよく見受けられる。そこでTJ-127の炎症疼痛に対する抗侵害受容作用を急性炎症および慢性炎症によって侵害受容閾値の低下した痛覚過敏動物を用いて検討した。

急性炎症を惹起した後肢の疼痛反応を用いて鎮痛検定を行う方法およびアジュバント関節炎疼痛を鎮痛検定に利用する方法で検討した結果、それぞれに有効な抗侵害受容作用を示した。特に慢性炎症疼痛モデルであるアジュバント関節炎における作用は、その他の病態動物モデルよりも比較的少量(0.35g/kg)で強い抗侵害受容作用を示した。なお、以上抗侵害受容作用におけるメカニズムについては今後検討する必要があるがTJ-127の下行性抑制系に対する作用あるいは抗炎症作用によるヒスタミンの遊離抑制²¹⁾や5-リポキシゲナーゼ活性抑制¹⁾および炎症誘発サイトカインであるIL-1産生抑制¹⁹⁾などが影響している可能性がある。これらの結果はTJ-127が臨床における打撲あるいは慢性関節リウマチによる疼痛に対して有効である事を示唆するものと考えられる。

結 論

麻黄附子細辛湯(TJ-127)は各種鎮痛試験で明らかな抗侵害受容作用が認められ、さらに、アジュバント関節炎のような慢性疼痛モデルにおいても比較的少量の連続投与で効果があり、鎮痛薬としての有用性が示唆された。

References

1) Nakamura, K., Murayama, K., Ota, T., Kaida, T., Sahashi, Y.,

- Tomita, H., Murayama, T. and Mori, K.: Ekihiro ni Mao bushi saishin to. *Nihontoyogaku zasshi* **39**, 69-73, 1989.
- 中村謙介, 村山和子, 太田東吾, 貝田豊郷, 佐橋佳郎, 富田 寛, 村山輝之, 盛 克己: 易疲労に麻黄附子細辛湯. *日本東洋医学雑誌* **39**, 69-73, 1989.
- 2) Oh, Z.: Mao bushi saishin to ekisu san no oyo. *Kampokenkyu* **12**, 12-22, 1985.
- 王 瑞雲: 麻黄附子細辛湯エキス散の応用. *漢方研究* **12**, 12-22, 1985.
- 3) Shibata, T. and Sugiyama, M.: Mao bushi saishin to ekisu oyobi sono kosei shoyaku no himan saibo karano hisutamin yuri yokusei sayo. *J. Med. Pharm. Soc. UAKAN YAKU* **6**, 288-289, 1989.
- 柴田忠良, 杉山正夫: 麻黄附子細辛湯エキスおよびその構成生薬の肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用. *和漢医薬学会誌* **6**, 288-289, 1989.
- 4) Niwa, J.: Mao bushi saishin to ekisu san no yakuri sayokijo Tokuni ko arerugi sayo oyobi ko sanko sayo ni tsuite no kento. *Hijukakyo* **82**, 193-209, 1987.
- 丹羽勉負: 麻黄附子細辛湯エキス散の薬理作用機序 - 特に抗アレルギー作用および抗酸化作用についての検討. *皮膚科紀要* **82**, 193-209, 1987.
- 5) Kamiya, M.: Taijohoshin ni taisuru Mao bushi saishin to no yukore ni tsuite. *Kamposinyo* **7**, 39-40, 1988.
- 神谷守雄: 帯状疱疹に対する麻黄附子細辛湯の有効例について. *漢方診療* **7**, 39-40, 1988.
- 6) Torizuka, K.: Saishin no yakko yakuri. *Gendaitoyogaku* **16**, 99-104, 1995.
- 鳥居塚和生: 細辛の薬効. *薬理*. *現代東洋医学* **16**, 99-104, 1995.
- 7) Torizuka, K.: Mao no yakko yakuri. *Gendaitoyogaku* **15**, 89-92, 1994.
- 鳥居塚和生: 麻黄の薬効. *薬理*. *現代東洋医学* **15**, 89-92, 1994.
- 8) Oyama, T. and Amagaya, S.: Bushi no yakko, yakuri. *Gendaitoyogaku* **15**, 78-84, 1994.
- 尾山 力, 雨谷 栄: 附子の薬効. *薬理*. *現代東洋医学* **15**, 78-84, 1994.
- 9) Kuraishi, Y., Nakayama, T., Yamauchi, T., Hotani, T. and Satoh, M.: Antinociceptive effects of oriental medicine Kei Kyoh Zoh Soh Oh Shin Bu toh in mice and rats. *J. Pharmacobiodyn.* **13**, 49-56, 1990.
- 10) Randall, L.O. and Selitto, J.J.: A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **111**, 409-419, 1957.
- 11) Kuzuna, S. and Kawai, K.: Evaluation of analgesic agents in rats with adjuvant arthritis. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **23**, 1184-1191, 1975.
- 12) Levine, J.D., Lam, D., Taiwo, Y.O., Donatoni, P. and Goetzl, E.J.: Hyperalgesic properties of 15 lipoxygenase products of arachidonic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **83**, 5331-5334, 1986.
- 13) Martin, H.A., Basbaum, A.I., Goetzl, E.J. and Levine, J.D.: Leukotrien B4 decreases the mechanical and thermal thresholds of C fiber nociceptors in the hairy skin of the rat. *J. Neurophysiol.* **60**, 438-445, 1988.
- 14) Martin, H.A., Basbaum, A.I., Kuit, G.C., Goetzl, E.J. and Levine, J.D.: Leukotrien and prostaglandin sensitization of cutaneous high threshold C and A delta mechanoreceptors in the hairy skin of rat hindlimb. *Neuroscience* **22**, 651-659, 1987.
- 15) Kanou, T., and Kachi, T.: Itami no seirigakuteki mekanizumu to chiryo eno oyo. *Chiryogaku* **24**, 896-902, 1990.
- 加納龍彦, 下地恒毅: 痛みの生理学的メカニズムと治療への応用. *治療学* **24**, 896-902, 1990.
- 16) Kita, T., Hata, T., Itoh, E., and Namimatsu, A.: Testing methods for vegetative syndrome in the rat and effects of neurotrophin and

- other drugs. *Japan. J. Phycosom. Med.* **23**, 61-68, 1983.
- 17) Hata, T., Kita, T., Itoh, E., and Kawabata, A. : The relationship of hyperalgesia in SART (repeated cold) stressed animals to the autonomic nervous system. *J. Auton. Pharmacol.* **8**, 45-52, 1988.
- 18) Kawamura, M., Namimatsu, A., Miura, S., Ohara, H., Yoneda, R. and Hata, T. : SART stress mausu ni okeru neurotropin no chintsu sayokijo ni tsuite. *Folia Pharmacol. japon.* **90**, 42p, 1987.
河村 稔, 浪松昭夫, 三浦智士, 大原啓敬, 米田良三, 秦多恵子 :
- SART ストレスマウスにおけるノイトロヒンの鎮痛作用機序について. *日本薬理学雑誌* **90**, 42p, 1987.
- 19) Mizoguchi, Y., Ichikawa, Y., Kawada, N., Kobayashi, K. and Morisawa, S. : Effects of Mao bushi saishin to on the synthesis of platelet activating factor (PAF) and interleukin 1 (IL-1) in isolated mouse hepatic sinusoidal endothelial cells. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN YAKU* **7**, 6-11, 1990.