

マウスの子宮腺筋症および乳腺発育に対する 生薬の組み合わせの影響

呉 国娟^{a,b)} 山本 和俊^{c)} 稲富 秀夫^{d)} 長澤 弘^{*a)}

^{a)}明治大学農学部実験動物学研究室, ^{b)}中国延辺大学農学院獣医系薬理学教研室,

^{c)}早稲田大学教育学部生物学教室, ^{d)}明治大学農学部天然物有機化学研究室

Effects of combined treatment with natural products on uterine adenomyosis and normal and preneoplastic mammary gland growth in SHN virgin mice

Guojuan WU^{a,b)} Kazutoshi YAMAMOTO^{c)} Hideo INATOMI^{d)} and Hiroshi NAGASAWA^{*a)}

^{a)}Experimental Animal Research Laboratory, Meiji University, ^{b)}Department of Veterinary Medicine, Yan Bian Agricultural College of China, ^{c)}Department of Biology, School of Education, Waseda University,

^{d)}Laboratory of Natural Products Chemistry, Meiji University

(Received July 22, 1996. Accepted October 16, 1996.)

Abstract

The effects of combined treatment with natural products having the potential to inhibit uterine adenomyosis and normal and preneoplastic mammary gland growth were investigated. SHN virgin mice were divided into 10 groups at 3 months of age and given the samples shown in Table I for 10 weeks in drinking water. Each sample was extracted repeatedly with hot water, dried *in vacuo* and dissolved with tap water at a concentration of 0.25 %. Thus, the daily dose ingested was 10-15 mg/mouse, which was estimated from the amount of water intake.

Incidence of uterine adenomyosis and the growth of normal and preneoplastic mammary glands were inhibited by Guan-mu-tong (*Caulis aristolochiae manshuriensis*; 関木通), Muo-yo (*Commiphora myrrha*; 没薬) or Motherwort (*Leonurus sibiricus*; 益母草); however, the effect of each sample was not additive when combined. Conversely, if the effect of the sample was remarkable when treated alone, it was rather alleviated by the combined treatment (Shui-zhi (*Hirudo nipponia*; 水蛭) and its combinations with Ru-xiang (*Pistacia lentiscus*; 乳香) on adenomyosis; Guan-mu-tong, Muo-yo or Motherwort and their combinations on normal mammary gland and preneoplastic hyperplastic alveolar nodules).

On the other hand, the combination showed marked effects even if each sample had little effect as seen in Ru-xiang and Shui-zhi on nodules.

All these observations confirmed the effects of natural products to bring over- or under-proliferation and/or function to the normal levels. These were further reflected by the findings in the excretion of urinary components, estrous/metestrous stages or ovarian structures.

Key words mouse, mammary gland, natural product, uterine adenomyosis.

*〒214-71 川崎市多摩区東三田1-1-1
1-1-1 Higashimita, Tama-ku, Kawasaki, Kanagawa
214-71, Japan

緒 言

現在、漢方薬の効用は日本のみでなく世界的に認められ、臨床的にも広く利用されている。また生薬はその配合によって、新たな作用を発揮する場合のあることは推察、あるいは経験的に知られているが、その機構を解明した研究はなく、漢方薬の構成生薬の組み合わせは理論的根拠に乏しい。我々は生薬の有効利用、および漢方薬のより効果的な処方を目指して、乳腺あるいは女性性器を対象に、種々の天然生理活性物質を含む生薬の作用とその機序について研究を行っている。

本研究はその一環として、当研究室において子宮腺筋症の発生あるいは乳腺の異常増殖に対して抑制効果の認められた益母草¹⁾ およびいくつかの中国産生薬²⁾ の組み合わせの影響を検討したものである。

材料と方法

試料：前の研究において子宮腺筋症の発生を完全に抑制した乳香 (Rx: *Pistacia lentiscus*)²⁾、水蛭 (Sz: *Hirudo nipponia*)²⁾、および子宮腺筋症と乳腺の異常増殖の両者に抑制効果を示した益母草 (Mw: *Leonurus sibiricus*)¹⁾、関木通 (Gmt: *Caulis aristolochiae manshuriensis*)²⁾、没薬 (My: *Commiphora myrrha*)²⁾ を用いた。いずれもその乾物 500 g あたり 60°C の温水各 1 l で 10 回抽出、抽出液を減圧濃縮、乾固したのち、Table I に示すように単独あるいは各 2 種類の生薬の 0.25 % 水道水溶液を作り試料とした。単独投与群で前回 (0.5 %) の半量 (0.25 %) を用いたのは、単独 (の濃度) ではみられない効果が組み合わせによって現れる可能性を検討するためであった。また各生薬の組み合わせは、我々のこれまでの実験経過 (経験) から最も有効と思われるものを採用した。

なお各試料の摂取量は摂水量より 10–15 mg/日/マウスと推定された。

動物：当研究室で兄妹交配によって系統繁殖している、乳癌および子宮腺筋症早期高発系の SHN 処女マウス³⁾ を用い、3 カ月齢 (体重 25 ± 0.1 g) より 10 週間、実験群には各試料を、対照群には水道水を自由摂取させた。

実験期間中、マウスは床敷 (クリンチップ: 日本クレア, 東京) を敷いたアルミ製ケージ (14 × 28 × 13 cm) に 4 匹ずつ収容し、週 2 回床敷交換を行ない、室温 21–22 °C、相対湿度 60–70 %, 換気回数 16 回/時間、14 時間照明 (5:00–19:00) の無窓動物室で飼育し、飼料として市販の固形飼料 (ラボ MR ブリーダー: 日本農産, 横浜) を自由に与えた。

体重の変化：実験開始時、および供試時に体重を測定し、実験期間中の変化率で示した。

摂餌・摂水量：実験開始日より 2–5 週目の 4 日間における給餌器および給水器の重量差より推定した。

発情周期：最終 2 週間、毎朝 (8:30–9:30) 膣スミアにより発情周期を調べた。

尿成分：最終週において、直接採尿法^{4,5)} によって尿を採取し、¹H-NMR⁶⁾ で分析した。

子宮腺筋症：供試時片側子宮角を Bouin 液で固定、定法により包埋し、6 μm の連続切片を作成、hematoxylin-eosin 染色し、腺筋症の発生と増殖の程度 (grade) を Mori and Nagasawa⁷⁾ に従って検討した。

乳腺の発育：両側胸部第三乳腺のホルマウント標本を作成し、10 倍下で鏡検した。乳腺発育の指標としては、乳腺胞の形成度と乳管の発育度を用いた。乳腺胞の形成は 1–7 に rating⁸⁾ し、また乳管の先端を直線で結び、その面積をコンピュータ画像解析装置 (ピラス, モデル LA-525, 東京) で測定し乳管の発育度の指標とした。同時に乳腺の前癌症状である HAN の数と面積も測定した。

プロラクチン (PRL) および遊離脂肪酸 (NEFA) の血中レベル：エーテル軽麻酔下で頸動脈切断採血し、室温に 6 時間、4°C に一晩置き、4°C で 20 分間遠沈 (3000 rpm) 後、血清は -20°C に保存した。PRL はラジオイムノアッセイ法⁹⁾ により、遊離脂肪酸は acyl CoA 法 (NEFA C-test: 和光純薬, 大阪) により測定した。

主要内分泌器官重量と組織学的検索：供試時に下垂体前葉、副腎、卵巣を摘出し、重量を測定した。また副腎および卵巣については組織学的検索を行なった。

統計処理：それぞれの実験群と対照群の間の測定値の差の有意性の検定は Student's-*t* 検定、あるいは Fisher exact probability 検定によった。

結 果

子宮腺筋症 (Table I)

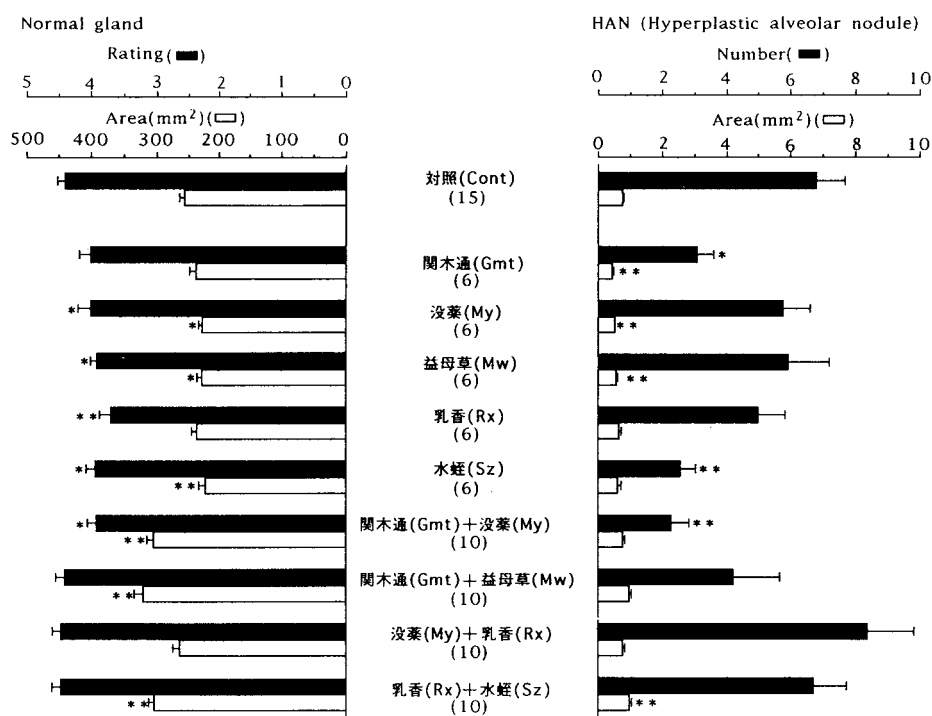
子宮腺筋症の発生は、関木通、没薬、益母草の単独投与で明らかに抑制されたが、これらの生薬の組み合わせによる相加作用は認められなかった。一方、単独では明らかに腺筋症の発生を抑制した乳香と水蛭の組み合わせでは 60 % の発生を示して全く無効であった。

なお、どの生薬の組み合わせによっても grade は全例 1 となり、増殖に対する組み合わせの効果が認められた。**乳腺発育 (Fig. 1)**

正常乳腺において、関木通と没薬の組み合わせを除いて、併用によって生薬の単独投与での乳腺胞形成抑制作

Table I Incidence and grade of uterine adenomyosis in each group.

Group	Incidence (%)	Adenomyosis Grade			
		1	2	3	4
対照 (Control)	46.7 (7/15) ^a	4	2	0	1
関木通 (Gmt : <i>Caulis aristolochiae manshuriensis</i>)	16.7 (1/6)*	0	1	0	0
没薬 (My : <i>Commiphora myrrha</i>)	16.7 (1/6)*	0	0	1	0
益母草 (Mw : <i>Leonurus sibiricus</i>)	16.7 (1/6)*	0	1	0	0
乳香 (Rx : <i>Pistacia lentiscus</i>)	16.7 (1/6)*	0	0	0	1
水蛭 (Sz : <i>Hirudo nipponia</i>)	0 (0/6)*	0	0	0	0
関木通 (Gmt) + 没薬 (My)	20.0 (2/10)*	2	0	0	0
関木通 (Gmt) + 益母草 (Mw)	20.0 (2/10)*	2	0	0	0
没薬 (My) + 乳香 (Rx)	30.0 (3/10)	3	0	0	0
乳香 (Rx) + 水蛭 (Sz)	60.0 (6/10)	6	0	0	0

^aNumber of mice with adenomyosis/Number of mice examined.*Significantly lower than the control at $p < 0.05$.Fig. 1 Effects of combined treatment with natural products on normal and preneoplastic mammary gland growth (Mean $\pm$ S.E.M.). Rating and area are the indices of the growth of end-bud and duct systems, respectively. Number of estimates is in the parentheses. * or ** Significantly different from the control at $p < 0.05$ or 0.01 .

用は無効となった。

一方、乳管の発育は、単独ではほとんどの場合抑制効果が認められたが、併用では逆に促進された。

HANの形成数に対し単独で抑制作用のみられたのは、関木通と水蛭であった。関木通は没薬との併用によ

って影響されなかったが、水蛭の抑制作用は乳香との併用によって阻止された。

HANの大きさは、関木通、没薬、益母草の単独投与によって有意に抑制されたが、これらの抑制は関木通と没薬、あるいは益母草との併用によって打ち消された。ま

Table II Body weight change and endocrine organ weights in each group. (Mean±S.E.M.)

Group	No. of mice	Body weight change ^a (%)	Anterior pituitary (mg)	Adrenals (mg)	Ovaries (mg)
対照 (Control)	15	10.2±1.1	1.6±0.1	10.7±0.6	20.6±0.8
関木通 (Gmt)	6	3.9±1.6*	1.5±0.2	8.8±0.5	13.6±0.7*
没薬 (My)	6	8.9±1.3	1.4±0.3	11.0±0.7	19.9±1.2
益母草 (Mw)	6	3.9±1.2*	2.0±0.2	9.6±0.5	17.3±1.1
乳香 (Rx)	6	8.0±1.3	1.9±0.2	9.5±0.6	16.5±1.2
水蛭 (Sz)	6	8.1±2.3	1.7±0.1	9.9±0.6	17.3±0.4
関木通 (Gmt)+没薬 (My)	10	7.8±0.9	1.5±0.1	10.5±0.6	18.3±1.2
関木通 (Gmt)+益母草 (Mw)	10	9.5±1.2	1.5±0.1	9.5±0.3	18.0±0.9
没薬 (My)+乳香 (Rx)	10	6.7±1.3*	1.8±0.2	10.6±0.4	21.1±1.0
乳香 (Rx)+水蛭 (Sz)	10	9.8±1.0	1.9±0.2	10.6±0.4	20.4±0.7

^a Final body weight – Initial body weight
Initial body weight ×100

* Significantly lower than the control at $p < 0.05$.

Table III Food and water intakes in each group (Mean±S.E.M.)

Group	No. of cages	Food intake (g/mouse/day)	Water intake (g/mouse/day)
対照 (Control)	3	2.8±0.2	5.5±0.3
関木通 (Gmt)	2	2.7, 2.8	4.0, 4.5
没薬 (My)	2	3.7, 3.6	5.7, 5.8
益母草 (Mw)	2	2.9, 3.0	6.6, 6.9
乳香 (Rx)	2	2.9, 2.8	5.5, 5.9
水蛭 (Sz)	2	2.7, 2.8	6.0, 5.8
関木通 (Gmt)+没薬 (My)	3	3.5±0.1	2.1±0.1*
関木通 (Gmt)+益母草 (Mw)	3	2.3±0.1	2.0±0.03*
没薬 (My)+乳香 (Rx)	3	3.1±0.1	4.4±0.04
乳香 (Rx)+水蛭 (Sz)	3	2.7±0.1	4.8±0.3

* Significantly lower than the control at $p < 0.05$.

た単独では無効であった乳香と水蛭の併用によって HAN の大きさは有意に上昇した。

体重 (Table II)

関木通による体重増加の抑制は没薬および益母草単独ではやはり体重増加を抑制させた一併用によって完全に阻止された。単独投与では体重の変化に影響が見られなかった没薬と乳香の組み合わせは対照群に比べて体重の増加を抑制した。

主な内分泌器官重量と組織学的検索 (Table II)

関木通の単独投与によって有意に卵巣重量は低下し、形態的にほとんど卵巣と間質のみであったが、没薬、あるいは益母草との併用によって卵巣重量は対照群のレベルまで増加し、また黄体の存在も認められるようになった。他の生薬は単独投与でも併用でも、測定された内分

泌器官重量および形態に影響は見られなかった。

摂餌・摂水量 (Table III)

単独の場合と同様、どの生薬の組み合わせも摂餌量に影響は見られなかった。

一方、関木通の単独投与による摂水量の低下傾向は、没薬、あるいは益母草との併用によって助長された。単独で影響のなかったもの同士の組み合わせは摂水量に影響しなかった。

尿成分 (Table IV)

多くの成分の排泄は関木通の単独投与によって促進される傾向が認められたが、hippurate, urea, creatinine, betaine および citrate は益母草との併用によってさらに促進された。一方、関木通単独による lactate 排泄の促進は益母草、あるいは没薬との併用によって有意に緩和された。

乳香による urea の高い排泄は没薬との併用によって完全に阻止された。また urea は水蛭によっても排泄が促進されたが、乳香との併用によって対照群のレベルまで低下した。

発情周期 (Fig. 2)

発情期/発情後期は、関木通、没薬、益母草、乳香によって延長する傾向が認められたが、いずれも併用によって対照群のレベルまで短縮された。

PRL および NEFA の血中レベル (Table V)

どの生薬も単独、組み合わせのいずれにおいても PRL レベルに対する影響は認められなかった。

NEFA レベルは乳香の単独投与で有意に上昇したが、これは没薬、あるいは水蛭との併用によって無効となった。またそれぞれ単独では無効であった関木通と没薬は、その併用によって NEFA レベルは有意に上昇した。

Table IV Urinary component levels^a in each group. (Mean±S.E.M.)

Group	No. of estimates	Hippurate	Urea	Allantoin	Creatinine	Creatine	Taurine	Betaine	Citrate	Acetate	Lactate
対照 (Control)	10	3.7 ±0.5	116 ±26	7.3 ±1.2	2.6 ±0.4	2.3 ±0.3	5.8 ±1.4	18.9 ±4.1	12.2 ±1.4	0.6 ±0.1	0.9 ±0.2
関木通 (Gmt)	6	5.7 ±0.9	207 ±46	9.6 ±1.5	3.5 ±0.5	3.8 ±2.2	11.5 ±4.8	23.5 ±4.0	20.8 ±6.1	1.0 ±0.1	6.7 ±2.1*
没薬 (My)	5	4.7 ±0.4	136 ±29	7.3 ±0.5	2.7 ±0.2	2.2 ±0.4	5.2 ±0.9	15.7 ±1.8	14.0 ±0.7	0.7 ±0.1	1.1 ±0.2
益母草 (Mw)	6	3.4 ±0.6	144 ±36	6.9 ±1.2	2.1 ±0.3	2.1 ±0.2	5.5 ±0.7	17.9 ±2.7	12.9 ±2.1	0.6 ±0.1	0.8 ±0.1
乳香 (Rx)	6	4.3 ±0.3	192 ±23*	9.1 ±0.8	2.6 ±0.1	2.4 ±0.2	6.5 ±0.6	23.2 ±0.6*	15.0 ±0.7	0.8 ±0.1	1.3 ±0.1
水蛭 (Sz)	6	4.8 ±0.2	230 ±42*	10.3 ±0.9	3.4 ±0.4	2.8 ±0.4	7.3 ±1.0	25.5 ±2.6*	17.0 ±1.1	0.8 ±0.1	1.3 ±0.3
関木通 (Gmt) + 没薬 (My)	5	4.9 ±0.8	181 ±29	8.9 ±1.0	3.3 ±0.6	2.1 ±0.4	6.1 ±0.7	17.4 ±1.9	22.1 ±2.4**	0.8 ±0.1	2.3 ±0.7*
関木通 (Gmt) + 益母草 (Mw)	5	6.1 ±0.6**	269 ±39*	10.3 ±0.8	4.5 ±0.5*	2.2 ±0.1	7.3 ±0.4	28.2 ±3.4	24.9 ±2.4**	0.8 ±0.0	2.2 ±0.6*
没薬 (My) + 乳香 (Rx)	3	2.7 ±1.4	110 ±26	6.4 ±1.8	2.5 ±0.7	2.1 ±0.2	5.3 ±1.6	16.1 ±3.8	14.7 ±5.1	0.8 ±0.3	1.3 ±0.5
乳香 (Rx) + 水蛭 (Sz)	3	2.9 ±0.5	103 ±28	5.7 ±1.3	2.0 ±0.5	1.7 ±0.2	4.0 ±1.3	14.7 ±2.4	10.9 ±2.5	0.7 ±0.1	1.3 ±0.5

^a Expressed in terms of the intensity of each signal relative to that of DSS (2,2-dimethyl-2-silapentate-5-sulforate)* or ** Significantly higher than the control at $p < 0.05$ or 0.01

Table V Serum levels of prolactin (PRL) and non-esterified free fatty acid (NEFA) in each group. (Mean±S.E.M.)

Group	PRL (ng/ml)	NEFA (μ Eq/ml)
対照 (Control)	138±14 (6)	1.8±0.2 (24)
関木通 (Gmt)	139±12 (6)	1.7±0.1 (5)
没薬 (My)	152±15 (5)	2.0±0.1 (5)
益母草 (Mw)	151±15 (5)	1.9±0.2 (5)
乳香 (Rx)	202±54 (6)	2.7±0.2 (5)*
水蛭 (Sz)	198±38 (6)	2.2±0.1 (5)
関木通 (Gmt) + 没薬 (My)	164±16 (9)	2.7±0.1 (10)*
関木通 (Gmt) + 益母草 (Mw)	171±16 (10)	1.9±0.1 (10)
没薬 (My) + 乳香 (Rx)	182±11 (10)	1.7±0.1 (10)
乳香 (Rx) + 水蛭 (Sz)	182±16 (9)	1.4±0.1 (10)

Number of estimates is in the parentheses.

* Significantly higher than the control at $p < 0.05$.

考 察

本実験において、各パラメータに対するそれぞれの生薬の単独投与の影響は、用いられた濃度が1/2量のため

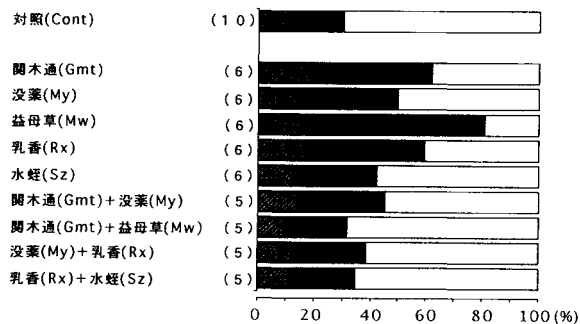


Fig. 2 Effects of combined treatment with natural products on the pattern of the estrous cycle in each group. 〇 proestrus, ■ estrus/metestrus, □ diestrus. Each stage is expressed in terms of the percentage of the total period examined (14 days). Number of mice examined is in the parentheses.

必ずしも前報の結果^{1,2,10-12)}と一致しなかったが傾向はほぼ同様であった。

子宮筋症、乳腺の正常発育、異常増殖などは、関木通をはじめとして、没薬、益母草などの単独投与によって明らかに抑制されたが、それらの併用による相加作用

は認められなかった。逆に腺筋症における水蛭単独、および乳香との併用、あるいは正常乳腺および HAN の発育における関木通、没薬、益母草の単独、およびそれらの併用にみられるように、単独投与の影響が顕著な場合には、むしろ併用によって効果の緩和される傾向も認められた。また乳香、水蛭などの HAN の発育に対する影響のように、単独投与では無効であったもの同士でも、その併用によって効果を示す場合も認められた。

同様の傾向は発情周期の型、卵巣の形態、尿成分の排泄などにおける生薬の単独投与と、その併用によっても明確に示されている。すなわち関木通、没薬、益母草、あるいは乳香の単独投与による発情期/発情間期の延長もそれらの併用によって対照群のレベルまで短縮された。さらに関木通による卵巣黄体消失は没薬、あるいは益母草との併用によって回復している。また始めにも述べたように本実験で用いた SHN マウスは子宮腺筋症および乳癌の病態モデルであり、その尿成分の排泄量は、'正常マウス'である ICR に比べて、acetate, lactate を除いて著しく少ない。¹³⁾ 関木通によって排泄の促進された尿成分の多くが没薬あるいは益母草との併用によってさらに促進され、逆に lactate の排泄が緩和されたのも、生薬相互の調節作用を示すものと考えられる。

いくつかの例外はあるにせよ、全般的に本実験の結果は、生体の機能が昂進している場合には抑制し、逆に減退している場合には促進させるという生薬の作用が、併用された生薬相互の間でも発現されることが明らかになった。したがって単独で顕著な効果を示す場合にはその相加（相乗）効果を期待する生薬の組み合わせは必ずしも有効でないことが示唆された。

本実験に用いられた SHN 雌マウスは子宮腺筋症および乳癌の早期高発系統であり、両疾患の発生増殖は共通の内分泌因子である PRL によって促進される。¹⁴⁾ しかし本実験ではどの生薬の単独、あるいは組み合わせ投与も PRL 分泌には影響しなかった。このことは用いられた生薬の両疾患抑制効果は PRL を介しないことを示すもので、同様の結果が桂枝茯苓丸においても得られている。¹⁵⁾

謝 辞

本実験は明治大学科学技術研究所「総合研究」の一部である。三田村匡氏の御協力に感謝する。

References

- 1) Nagasawa, H., Onoyama, T., Suzuki, M., Hibino, A., Segawa, T. and Inatomi, H. : Effect of motherwort (*Leonurus sibiricus* L.) on preneoplastic and neoplastic mammary gland growth in multiparous GR/A mice. *Anticancer Res.* **10**, 1019-1024, 1990.
- 2) Wu, G., Nagumo, A., Yasuda, M., Yamamoto, K., Sakamoto, S., Mori, T., Inatomi, H., Bai, S. and Nagasawa, H. : Effects of 7 Chinese natural products on normal and preneoplastic mammary gland growth and uterine adenomyosis in SHN virgin mice. *J. Trad. Med.* **11**, 50-56, 1994 (In Japanese with English summary).
- 3) Nagasawa, H., Konishi, R., Naito, T., Ohmiya, S. and Mori, T. : Relationship between mammary tumorigenesis and uterine adenomyosis in four strains of mice. *In Vivo* **1**, 237-240, 1987.
- 4) Nagasawa, H. and Nishiyama, H. : A device for urine collection from mice. In "Manual for Laboratory Animal Experiments" Japanese Society of Laboratory Animal Technicians (ed.), Sanseisha, Osaka, pp.32-33, 1992 (In Japanese).
- 5) Fujii, Y., Nagumo, A., Hasegawa, A. and Nagasawa, H. : Changes of urinary component level during pregnancy and lactation in mice. *J. Reprod. Dev.* **39**, 187-191, 1993.
- 6) Nagasawa, H., Fujii, Y., Nishiyama, H., Goto, Y. and Inatomi, H. : ¹H-NMR Spectroscopy of urinary components of SHN mice in the course of spontaneous mammary tumorigenesis. *Anticancer Res.* **12**, 993-996, 1992.
- 7) Mori, T. and Nagasawa, H. : Multiple endocrine syndrome in SHN mice : Mammary tumors and uterine adenomyosis. In "Comparative Aspects of Tumor Development." Kaiser, H.E. (ed.), Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, pp.121-130, 1989.
- 8) Nagasawa, H., Yanai, R., Nakajima, Y., Namiki, H., Kikuyama, S. and Shiota, K. : Inhibitory effects of potassium thiocyanate on normal and neoplastic mammary development in female mice. *Europ. J. Cancer* **16**, 473-480, 1980.
- 9) Yamamoto, K. and Kikuyama, S. : Radioimmunoassay of prolactin in plasma of bullfrog tadpoles. *Endocrinol. Japon.* **29**, 159-167, 1982.
- 10) Nagasawa, H., Inatomi, H., Suzuki, M., Yamamoto, Y. and Sensui, N. : Inhibition by motherwort (*Leonurus sibiricus* L.) of precancerous mammary hyperplastic alveolar nodules in mice. *Jpn. J. Pharmacognosy* **44**, 176-178, 1990.
- 11) Nagasawa, H., Inatomi, H., Suzuki, M. and Mori, T. : Further study on the effect of motherwort (*Leonurus sibiricus* L.) on preneoplastic and neoplastic mammary gland growth in multiparous GR/A mice. *Anticancer Res.* **129**, 141-144, 1992.
- 12) Nagasawa, H., Yasuda, M. and Wu, G. : Pattern of urinary components of virgin mice given guan-mu-tong (*Caulis aristolochiae manshuriensis*) as drinking water. *J. Trad. Med.* **12**, 86-88, 1995 (In Japanese with English summary).
- 13) Yasuda, M., Tanaka, M. and Nagasawa, H. : Comparison of mammary gland growth and some physiological parameters in a high mammary tumor strain of SHN mice and ICR, most popular and 'normal' mice. *Exp. Anim.* **45**, 141-148, 1996.
- 14) Mori, T. : Effects of long-term treatment with prolactin on mammary gland, uterus, and pancreas in SHN mice : Induction of multiple lesions. In "Prolactin Gene Family and Its Receptors" Hoshino, K. (ed.), Elsevier Science Publishers BV, New York, pp.131-135, 1988.
- 15) Mori, T., Sakamoto, S. and Nagasawa, H. : Effects of Chinese herbal medicine on spontaneous uterine adenomyosis in mice. *Sanfujinka Kampo Kenkyu no Ayumi* **11**, 32-38, 1984 (In Japanese).