

糖尿病動物 KKA^y マウスの血糖値, 飲水量及び尿量に対する 白虎加人参湯, 防風通聖散及び五苓散の作用

森元康夫,* 阪田美智子, 大野晶子, 前河智子, 田島 滋

Effects of Byakko-ka-ninjin-to, Bofu-tsusho-san and Gorei-san on Blood Glucose Level, Water Intake and Urine Volume in KKA^y Mice

Yasuo MORIMOTO,* Michiko SAKATA, Akiko OHNO, Tomoko MAEGAWA, and Shigeru TAJIMA
Kampo & Healthcare Research Laboratories, Kanebo, Ltd., 3-1, Kanebo-machi, Takaoka 933-0856, Japan

(Received August 27, 2001; Accepted November 5, 2001)

KKA^y mouse, a genetic animal model of diabetes mellitus, is characterized by not only hyperglycemia, but also polydipsia and polyuria like human diabetes mellitus. In this study, we investigated the effects of Byakko-ka-ninjin-to (BKN), Bofu-tsusho-san (BOF) and Gorei-san (GRE) on blood glucose level, water intake and urine volume in KKA^y mice. All these Kampo medicines were administered to the mice as the food admixture containing 1.5% or 4.5% of weight of food for 4 weeks. BKN at 1.5% and 4.5% decreased water intake without affecting blood glucose level. BOF at 1.5% showed the same effects as BKN did, but it decreased both water intake and blood glucose level at 4.5%. Furthermore, BOF at 4.5% obviously, but BKN at 4.5% slightly, decreased urine volume. However, GRE at 4.5% did not show any effects on blood glucose level, water intake and urine volume. From these results, BKN is confirmed to be effective against the polydipsia accompanied by diabetes mellitus, while BOF is suggested to be effective against not only polydipsia, but also polyuria and hyperglycemia in diabetes mellitus.

Key words—Kampo medicine; hyperglycemia; polydipsia; polyuria; KKA^y mouse

緒 言

糖尿病では尿糖により尿細管内浸透圧が上昇するため, 水の再吸収が抑制されて尿量が増加する。その結果, 組織水分含量が減少するため, 激しい口渇が起こり, 飲水量が増加する。糖尿病治療では高血糖の改善は言うまでもないが, このような多飲や多尿の改善も QOL (quality of life) の観点から重要である。今回, 我々はヒトの糖尿病と同様に飲水量と尿量の増加を示す遺伝性糖尿病動物 KKA^y マウスを用い, 臨床において糖尿病による口渇に対して処方される白虎加人参湯と, 肥満や糖尿病に用いられ清熱作用や利水作用を有する防風通聖散の血糖値, 飲水量及び尿量に対する作用を比較検討した。また, 組織内や消化管内への水分の停滞を是正して口渇を改善するとされる五苓散の作用も併せて検討したので報告する。

実 験 の 部

1. 使用動物 雄性 KKA^y/Ta マウス及び雄性 C57BL/6J マウスをいずれも 5 週齢で日本クレアより購入し, 2 週間の予備飼育後実験に使用した。1 群の例数は 7—8 匹で, 動物はすべて温度 23 ± 2 °C, 湿度 55 ± 10%, 午前 8 時点灯, 午後 8 時消灯の条件下で単独飼育とした。また, 飼育中は飼料及び水を自由摂取させた。

2. 使用薬物 白虎加人参湯, 防風通聖散及び五苓散はいずれもカネボウ株式会社製医療用エキス粉末を使用した。このうち, 白虎加人参湯及び防風通聖散については, 両処方ともエキス粉末含量が 1.5% 及び 4.5% (w/w) となるように普通粉末飼料 (CE-2, 日本クレア) に混合して試験飼料を調製した。また, 五苓散についてはエキス粉末含量が 4.5% (w/w) となるように同様に試験飼料を調製した。

3. 実験方法 KKA^y マウスに各処方のエキス含有試験飼料を 4 週間自由摂取させ, 途中 1 週間ごとに体重, 摂餌量, 飲水量及び飽食時血糖値を測定

した。また、各処方 4.5% 投与群については 4 週間投与後の血清インスリン濃度及び 24 時間尿量をも測定した。なお、control の KKA^y マウス（以下 control 群）及び正常動物である C57BL マウス（以下 C57BL 群）には普通粉末飼料を 4 週間自由摂取させ、同様に実験を行った。

4. 血糖値及び血清インスリン濃度の測定 マウスをエーテル麻酔し、眼窩静脈叢よりガラス・キャピラリーを用いて採血した後、遠心分離して血清を得た。なお、採血は非絶食下で午前 10 時—11 時の間に行った。血糖値はグルコース B-テストワコー（和光純薬）を用いて測定した。また、血清インスリン濃度はマウスインスリン測定キット（森永生科学研究所）を用いて測定した。

5. 統計学的処理 有意差検定は control 群と C57BL 群との間は *t* 検定法により、また control 群と処方投与群との間は一元配置分散分析後 Dunnett 法により行った。なお、いずれの場合も危険率が 5

%未満 ($p < 0.05$) の場合を有意差ありと判定した。

実験結果

1. 体重及び摂餌量 KKA^y マウスの体重及び摂餌量は投与開始時点で既に正常動物の C57BL マウスに比べて有意に高かった。Control 群では投与期間中も体重は微増を続けたが、摂餌量はわずかに減少する傾向が認められた。白虎加人参湯 1.5%、4.5% 投与群及び防風通聖散 1.5% 投与群の体重及び摂餌量は投与期間中 control 群と差はなかった。一方、防風通聖散 4.5% 投与群では体重及び摂餌量は 1 週目から control 群に比べて有意に減少した。五苓散 4.5% 投与群の体重は control 群と差はなかったが、摂餌量は 2 週目以降に control 群よりも減少する傾向が認められた (Figs. 1, 2)。

2. 血糖値 KKA^y マウスの血糖値は投与開始時点で既に C57BL マウスに比べて著しく高く、control 群では投与期間中も同様に高いレベルで推

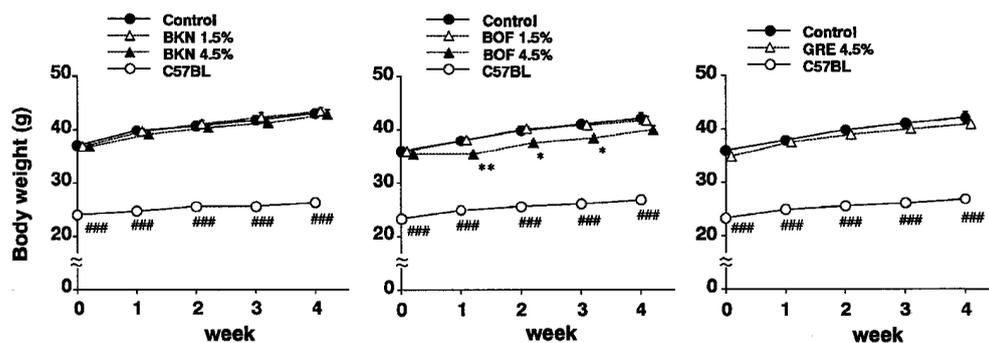


Fig. 1. Effects of Byakko-ka-ninjin-to (BKN), Bofu-tsusho-san (BOF) and Gorei-san (GRE) on Body Weight in KKA^y Mice. Each point represents the mean \pm S.E. of 7–8 mice. Significant differences from the control; ### $p < 0.001$ (*t*-test). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Dunnett's test).

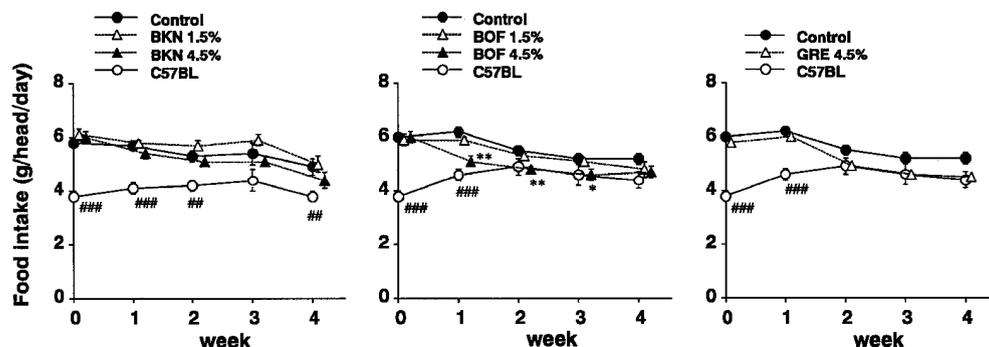


Fig. 2. Effects of Byakko-ka-ninjin-to (BKN), Bofu-tsusho-san (BOF) and Gorei-san (GRE) on Food Intake in KKA^y Mice. Each point represents the mean \pm S.E. of 7–8 mice. Significant differences from the control; # $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ (*t*-test). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Dunnett's test).

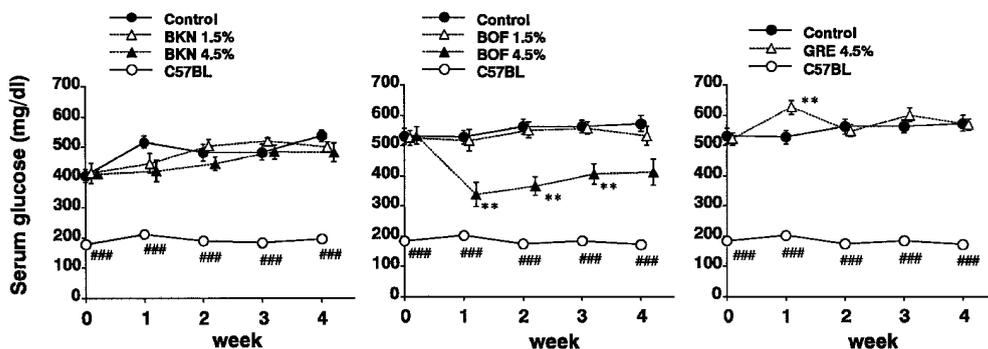


Fig. 3. Effects of Byakko-ka-ninjin-to (BKN), Bofu-tsusho-san (BOF) and Gorei-san (GRE) on Serum Glucose Level in KKA^Y Mice
Each point represents the mean \pm S.E. of 7–8 mice. Significant differences from the control; ### $p < 0.001$ (t -test). ** $p < 0.01$ (Dunnnett's test).

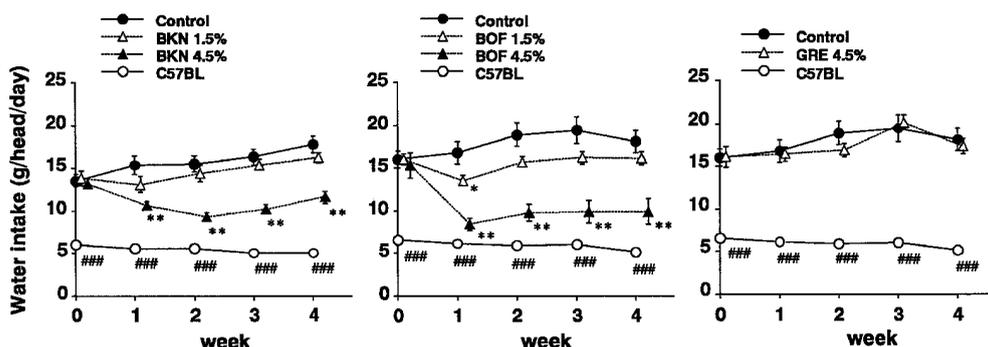


Fig. 4. Effects of Byakko-ka-ninjin-to (BKN), Bofu-tsusho-san (BOF) and Gorei-san (GRE) on Water Intake in KKA^Y Mice
Each point represents the mean \pm S.E. of 7–8 mice. Significant differences from the control; ### $p < 0.001$ (t -test). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Dunnnett's test).

移した。白虎加人参湯 1.5%、4.5%投与群及び防風通聖散 1.5%投与群の血糖値は投与期間中 control 群と差はなかった。一方、防風通聖散 4.5%投与群では血糖値は 1 週目から control 群に比べて有意に低下した。五苓散 4.5%投与群では 1 週目の血糖値が control 群より有意に上昇したが、2 週目以降は control 群と差はなかった (Fig. 3)。

3. 飲水量 KKA^Y マウスの飲水量は投与開始時点で既に C57BL マウスに比べて著しく高く、control 群では投与期間中も同様に高いレベルで推移した。白虎加人参湯 1.5%投与群では飲水量は投与期間中 control 群に比べてわずかに減少し、4.5%投与群では有意に減少した。防風通聖散 1.5%投与群の飲水量は 1 週目に control 群に比べて有意に減少し、それ以降も有意差はないものの明らかに減少した。さらに、防風通聖散 4.5%投与群では飲水量は 1 週目から著明に減少した。五苓散 4.5%投与群の飲水量は投与期間中 control 群と差はなかった (Fig. 4)。

4. 血清インスリン濃度 4 週間投与後の control 群の血清インスリン濃度は C57BL 群に比べて著しい高値を示した。白虎加人参湯及び五苓散 4.5%投与群の血清インスリン濃度は control 群よりも低下する傾向が認められた。一方、防風通聖散 4.5%投与群では血清インスリン濃度は control 群よりも上昇する傾向が認められた (Fig. 5)。

5. 尿量 4 週間投与後に測定した各群の 24 時間の尿量を、control 群の尿量を 100%として表した。その結果、control 群の尿量は C57BL 群に比べて著しい高値を示した。白虎加人参湯 4.5%投与群では尿量は control 群より減少する傾向が認められ、防風通聖散 4.5%投与群ではそれよりもさらに明らかな尿量の減少が認められた。一方、五苓散 4.5%投与群では尿量は control 群よりも増加する傾向が認められた (Fig. 6)。

考 察

今回の検討で、白虎加人参湯は 1.5%及び 4.5%

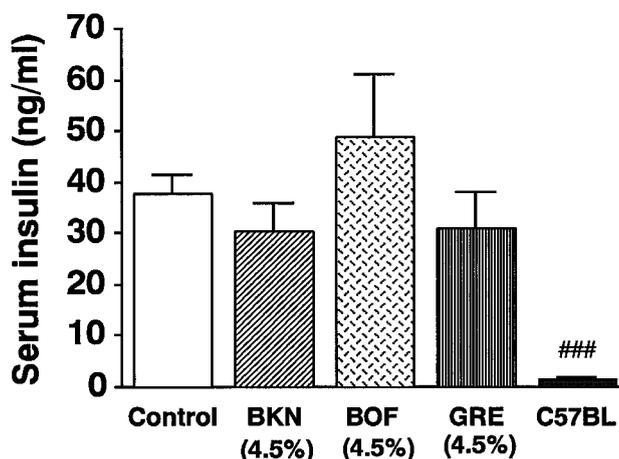


Fig. 5. Effects of Byakko-ka-ninjin-to (BKN), Bofu-tsusho-san (BOF) and Gorei-san (GRE) on Serum Insulin Level in KKA^y Mice

Each column represents the mean \pm S.E. of 7–8 mice. Significant differences from the control; ### $p < 0.001$ (t -test).

の4週間混餌投与でKKA^yマウスの体重や血糖値に影響を与えなかった。KimuraらはKKCA^yマウスにおいて白虎加人参湯が500 mg/kgの腹腔内投与で血糖低下作用を示すことを報告している。¹⁾一方、鈴木らはKKCA^yマウスに白虎加人参湯500 mg/kgを1日1回、27日間経口投与しているが、この検討では投与6時間後の血糖値は毎回投与前値より低下するものの、投与前の血糖値には期間中変化は認められていない。²⁾また、MiuraらはKKCA^yマウスに白虎加人参湯90 mg/kgを2週間経口投与し、白虎加人参湯と運動療法を併用すると血糖値の低下が認められることを報告しているが、この検討でも白虎加人参湯単独投与群では血糖値に変化は認められていない。³⁾今回は混餌投与での検討ではあるが、白虎加人参湯が経口投与で血糖低下作用を示さなかった結果に関しては、鈴木ら²⁾やMiuraら³⁾の報告と矛盾しないと考えられる。

防風通聖散は1.5%の混餌投与では体重や血糖値に影響を与えなかったが、4.5%の混餌投与では体重増加を抑制し、血糖値を著明に低下させた。このとき、摂餌量は防風通聖散1.5%投与群では投与期間中control群と差はなかったが、4.5%投与群では1週目から有意に減少した。このような摂餌量の減少が防風通聖散の体重増加抑制作用や血糖低下作用に関与しているか否かについては現時点では不明である。したがって、今後は例えばpair-feedingなどの手法を用いて、防風通聖散による摂餌量の減少と

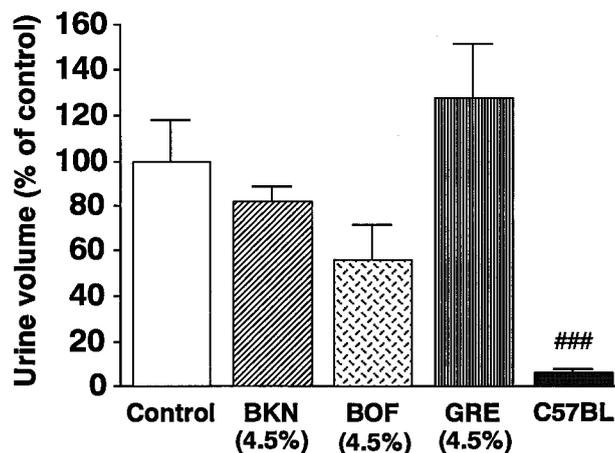


Fig. 6. Effects of Byakko-ka-ninjin-to (BKN), Bofu-tsusho-san (BOF) and Gorei-san (GRE) on Urine Volume in KKA^y Mice

Each column represents the mean \pm S.E. of 7–8 mice. Significant differences from the control; ### $p < 0.001$ (t -test).

これらの作用との関係について明らかにする必要はある。なお、防風通聖散には構成生薬に瀉下作用を有する大黄が含まれているが、今回の検討では防風通聖散4.5%投与群において投与期間中に下痢などは認められなかった。このことから、前述のような防風通聖散の作用が下痢に伴う栄養吸収障害によるものでないことは明らかである。

KKA^yマウスはいわゆる肥満型糖尿病モデルであるため、肥満が糖尿病の増悪因子として病態に関与していると考えられる。著者らはこれまでにmonosodium glutamate誘発肥満ラット、⁴⁾フルクトース負荷肥満ラット⁵⁾及び正常マウス⁶⁾を用いた検討で、防風通聖散が今回と同じ1.5%及び4.5%の混餌投与で肝臓での脂肪合成を抑制するとともに、脂肪細胞での脂肪分解及び褐色脂肪組織での熱産生を促進して体重や体脂肪量の増加を抑制することを報告している。これらのことから、防風通聖散はKKA^yマウスにおいても同様の機序により肥満を抑制し、その結果血糖値を低下させたと推察される。

また最近、ノルエピネフリンやアドレナリン β_3 アゴニストが、脂肪細胞上のアドレナリン β_3 受容体を介して、インスリン存在下及び非存在下で脂肪細胞内へのグルコース取り込みを促進することが報告されている。^{7,8)}防風通聖散の構成生薬の1つである麻黄は、その成分のエフェドリンが交感神経終末からのノルエピネフリン遊離を促進することが知ら

れている。⁹⁾したがって、防風通聖散により交感神経終末からのノルエピネフリン遊離が促進され、これが脂肪細胞の β_3 受容体に作用して血中グルコースの取り込みが促進し、血糖値が低下した可能性が考えられる。

KKA^y マウスではインスリン抵抗性に伴う代償的な高インスリン血症が認められる。今回の検討では、血清インスリン濃度は白虎加人参湯及び五苓散投与群で低下傾向が認められたが、防風通聖散投与群ではわずかではあるが control 群よりも上昇する傾向が認められた。このことから、防風通聖散は KKA^y マウスにおいてはインスリン抵抗性を改善するよりも、むしろインスリン分泌を促進して血糖値を低下させた可能性が考えられる。木村らは KKCA^y マウスより単離した培養膵島において白虎加人参湯がインスリン分泌を促進し、その作用には人参が関与していることを報告している。¹⁰⁾しかし、今回の検討では白虎加人参湯投与群には血糖値の低下や血清インスリン濃度の上昇は認められず、人参を含まない防風通聖散を投与した群でこれらの作用が認められた。このような矛盾の原因は不明であるが、前述のように白虎加人参湯の血糖低下作用は腹腔内投与では認められるが¹⁾経口投与では不明確である^{2,3)}との報告があることから、人参によるインスリン分泌促進作用は経口投与では発現されないと推察される。一方、防風通聖散の構成生薬の中には経口投与でもインスリン分泌促進作用を示すものが含まれていると考えられる。

以上のように、防風通聖散が KKA^y マウスの血糖値を低下させた機序については、現時点では(1)抗肥満作用、(2)グルコース取り込み促進作用及び(3)インスリン分泌促進作用などが考えられるが、今後さらに詳細な検討を行った上で解明する必要がある。

今回の検討で、白虎加人参湯及び防風通聖散は KKA^y マウスの飲水量及び尿量を減少させた。このうち白虎加人参湯 4.5% 投与群及び防風通聖散 1.5% 投与群では、血糖値は control 群とほとんど変わらないにもかかわらず、飲水量は control 群に比べて明らかに減少した。このことから、これら両群で認められた飲水量の減少には、血糖低下作用に依存しない別の機序の関与が示唆された。白虎加人参湯及び防風通聖散の構成生薬の中には甘草が共通して含まれているが、甘草は抗利尿作用により体内の水

分を保持することが知られている。^{11,12)}したがって、このような甘草の作用により尿量増加に伴う水分喪失が抑制され、その結果飲水量が減少したと推察される。また、KKA^y マウスを激しい口渴を呈する一種の熱証モデルとして捉えると、両処方に含まれる石膏が清熱・止渴作用により飲水量を減少させたと考えられる。しかし、処方中の石膏の配合率(生薬重量基準)は白虎加人参湯(15/31.5)の方が防風通聖散(2/26.45)より高いにもかかわらず、飲水量減少作用は防風通聖散の方が強く、石膏の配合率と関連しなかった。この原因について詳細は不明であるが、18種類もの生薬から成る防風通聖散の場合には、石膏の他にもいくつかの生薬が口渴抑制作用に関与している可能性が考えられる。さらに、防風通聖散 4.5% 投与群に関しては、これらの作用に加えて、尿量増加の原因である高血糖自体が改善されたために飲水量が著明に減少したと推察される。なお、防風通聖散の血糖値や飲水量への作用は投与開始後 1 週間で既にピークに達していることから、今後は単回投与での検討を含め、投与開始早期での作用についても検討する必要があると考えられる。

ところで、五苓散は KKA^y マウスの血糖値、飲水量及び尿量のいずれに対しても作用を示さなかった。一般に、五苓散は摂取した水分が組織内や消化管内に停滞して血中に移行せず、そのために喉が渇いたり尿量が減少したりするような病態に有効な処方とされている。^{13,14)}今回、五苓散が無効であった原因について詳細な点は不明であるが、KKA^y マウスではこのような病態と異なり、尿量の増加による体内水分の喪失が先に起こり、それを補うために飲水量が増加したため、五苓散が効果を示さなかったと推察される。

以上、今回の結果から、白虎加人参湯は糖尿病による多飲に対して有効であることが確認された。一方、防風通聖散は糖尿病による多飲を改善するだけでなく、多尿及び高血糖に対しても有効である可能性が示唆された。

REFERENCES

- 1) Kimura I., Nakashima N., Sugihara Y., Fujun C., Kimura M., *Phytother. Res.*, **13**, 484-488 (1999).

- 2) Suzuki J., Kimura M., *Folia Pharmacol. Jpn.*, **83**, 1–10 (1984).
- 3) Miura T., Ishihara M., Ichiki H., Kubo M., Komatsu Y., Ishihara E., Sasaki H., Tanigawa K., *J. Trad. Med.*, **16**, 79–82 (1999).
- 4) Morimoto Y., Sakata M., Ono A., Maegawa T., Masuda H., Nagano M., Fukunishi K., *J. Trad. Med.*, **15**, 400–401 (1998).
- 5) Morimoto M., Sakata M., Ohno A., Maegawa T., Tajima S., *Folia Pharmacol. Jpn.*, **117**, 77–86 (2001).
- 6) Ohno A., Sakata M., Morimoto Y., Tajima S., *J. Trad. Med.*, **18**, 33–38 (2001).
- 7) Shimizu Y., Kielar D., Minokoshi Y., Shimazu T., *Biochem. J.*, **314**, 485–490 (1996).
- 8) de Souza C. J., Hirshman M. F., Horton E. S., *Diabetes*, **46**, 1257–1263 (1997).
- 9) Dulloo A. G., Seydoux J., Girardier L., *Int. J. Obes.*, **15**, 317–326 (1991).
- 10) Kimura M., Suzuki J., Yasuda M., *Proc. Symp. WAKAN-YAKU*, **15**, 5–8 (1982).
- 11) Stewart P. M., Wallace A. M., Valentino R., Burt D., Shackleton C. H., Edwards C. R., *Lancet*, **8563**, 821–824 (1987).
- 12) Forslund T., Fyhrquist F., Froseth B., Tikkanen I., *J. Intern. Med.*, **225**, 95–99 (1989).
- 13) Hosono H., *Jpn. J. Oriental Med.*, **43**, 372–386 (1993).
- 14) Orita M., Nakanishi Y., Tang F., Hirano H., Abe H., *J. Trad. Med.*, **16**, 32–37 (1999).