

レーザードップラー血流量計を用いたベタメタゾン
誘発瘀血マウスの末梢血流量に対する漢方湯液の影響

上田條二, 大矢英津子, 宇田川こずえ, 原 昭子, 福井 舞,
山岸宏和, 中澤孝浩, 安田高明, 大澤啓助*

**Effect of Kampo Medicines on the Peripheral Blood Flow Rate of Betamethason-Induced
Oketsu Syndrome Mice by Laser Doppler Flow Meter**

Joji UEDA, Etsuko OHYA, Kozue UDAGAWA, Akiko HARA, Mai FUKUI, Hirokazu YAMAGISHI,
Takahiro NAKAZAWA, Takaaki YASUDA, and Keisuke OHSAWA*
Department of Phytochemistry, Tohoku Pharmaceutical University, 4-4-1 Komatsushima,
Aoba-ku, Sendai 981-8558, Japan

(Received January 8, 2004; Accepted April 2, 2004)

Stagnation of peripheral blood flow is the cause of various diseases. Changes in peripheral blood flow after oral administration of Kampo medicines in mice with betamethasone-induced *oketsu* syndrome and normal mice were examined using a laser Doppler blood flow meter. The Kampo medicines used were: Toki-shakuyaku-san; Kami-shoyo-san; Keishi-bukuryo-gan; Daio-botanpi-to; Tokaku-joki-to; Goshuyu-to; and Hange-koboku-to. In the *oketsu* mice, blood flow was improved by single-dose administration of Toki-shakuyaku-san, Kami-shoyo-san, Keishi-bukuryo-gan, Daio-botanpi-to, Tokaku-joki-to, and Goshuyu-to, but only Toki-shakuyaku-san increased blood flow significantly in normal mice. In addition, blood flow decreased after single-dose administration of Keishi-bukuryo-gan, Daio-botanpi-to, and Tokaku-joki-to in normal mice.

Key words—peripheral blood flow rate; laser Doppler flow meter; Kampo medicine; *oketsu* syndrome; Toki-shakuyaku-san; Keishi-bukuryo-gan

はじめに

生体において、体の全血管の90%を占める毛細血管での末梢循環は生体組織の機能維持に重要な役割を持っている。末梢循環機能低下すなわち血液の滞りには血管の損傷、収縮、拡張、うっ血、充血及び血管内での凝固線溶系の異常が関連し、これによって引き起こされる病的状態が漢方独特の概念である瘀血の本体と考えられている。また、日本人の特有の病気とされている冷え症も末梢血流量の低下によって起こることが多い。¹⁾ 瘀血と血流量との関係について Kikuchi らはヒト皮膚末梢血流量を測定し瘀血が進行するにつれて血流量が低下することを明らかにしている。²⁾ また、谿らは糖質コルチコイド製剤をラットに長期投与すると血液の粘度が上昇し、瘀血様症状を呈することを報告している。³⁾ さ

らに、Nagai らは、糖質コルチコイドをマウスに長期投与することにより瘀血様症状を呈し、血中のシアル酸の量が増加し、赤血球膜のシアリダーゼ活性が上昇することを報告している。⁴⁾ 以上のことから血液の滞りを改善する薬物の評価には末梢血流量を測定することが有用であると考えられる。

末梢血流量の測定は測定部位により値が異なるが、村山らは各種薬物のマウス皮膚末梢血流量への影響についてレーザードップラー血流量計を用い検討し、マウス背部の末梢血管領域で測定することにより安定した血流量を測定することができることを報告している。⁵⁾

また、松田らはレーザードップラー血流量計を用いた生薬に対する研究として、地黄の血行動態に及ぼす影響について報告している。⁶⁾ しかし、漢方湯液の末梢血流量に対する影響についての報告は見られない。

そこで今回、筆者らは主に婦人病薬として汎用さ

れている当帰芍薬散，加味逍遥散，桂枝茯苓丸，大黄牡丹皮湯，桃核承気湯，冷えにより引き起こされる種々の症状に対し用いられる呉茱萸湯，また抗不安薬などとして用いられている半夏厚朴湯の7種の漢方湯液を，レーザードップラー血流量計を用い，ベタメタゾン処理した瘀血様病態マウス（瘀血マウス）と未処理のマウス（正常マウス）に投与したときの末梢血流量に対する影響を検討したので報告する。

材料及び方法

1. 実験動物 雄性 ddY マウス（30—40 g, SLC）を用いた。動物は室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ，湿度 $55 \pm 5\%$ ，12 時間周期の明暗条件及び自由な摂水・摂食条件下で飼育した。

2. 使用薬物 ペントバルビタール（NEM-BUTAL[®]，アボットラボラトリーズ，イリノイ）及びベタメタゾン（RINDERON[®]，塩野義製薬，大阪）を用いた。漢方湯液配合生薬は第14改正日本薬局方適用の市販品（松浦漢方，名古屋）を用いた。用いた各生薬のロット番号は当帰 469104，川芎 465041，芍薬 093025，茯苓 802041，白朮 602123，沢瀉 868121，柴胡 915075，牡丹皮 959063，山梔子 799064，甘草 032064，乾姜 161061，薄荷 899062，桂皮 54063，桃仁 883072，大黄 069052，冬瓜子 828074，呉茱萸 852051，生姜 837124，人参 710072，大棗 163111，半夏 802041，厚朴 247072，蘇葉 0252072 である。サンプル標本は東北薬科大学生薬化学教室に保管。

3. 試料の調製 当帰芍薬散，加味逍遥散，桂枝茯苓丸，大黄牡丹皮湯，桃核承気湯，呉茱萸湯及び半夏厚朴湯は，それぞれ配合生薬1日量を正確に量り，600 ml の水を加え，約半量となるまで煎じ，5重のガーゼでろ過，煎液を凍結乾燥し， -5°C で使用時まで保存した。エキス収量はそれぞれ当帰芍薬散 2.2 g，加味逍遥散 2.6 g，桂枝茯苓丸 1.8 g，大黄牡丹皮湯 1.9 g，桃核承気湯 2.4 g，呉茱萸湯 1.6 g 及び半夏厚朴湯 1.9 g であった。

4. 装置 レーザードップラー血流量計は Laser flow meter ALF21SS (ADOVANCE, Japan) を用いた。

5. 瘀血様病態マウスの作成 ベタメタゾン 1.6 mg/kg/day を7日間マウス後肢に筋肉注射した。予試験として，ベタメタゾン投与前と投与最終

日に血流量を測定し，投与前 $6.4\text{—}10.5 \text{ ml/min/100 g}$ が投与後 $2.6\text{—}3.4 \text{ ml/min/100 g}$ に低下していることから7日間ベタメタゾンを投与することによって瘀血様病態マウスとなることを確認した。

6. 漢方湯液の投与

6-1. 単回投与 Nagai らの方法⁴⁾に従いそれぞれの漢方湯液 2 g/kg を血流量測定1時間前にゾルデを用い経口投与した。

6-2. 反復投与 それぞれの漢方湯液 2 g/kg/day を1週間経口投与した。最終日は血流量測定1時間前に投与した。

瘀血様病態マウスについては湯液投与中もベタメタゾンを継続投与した。

7. 血流量の測定 各漢方湯液投与1時間後にペントバルビタール麻酔を行い，レーザードップラー血流量計を用い，村山らの方法⁵⁾に従い測定前日に背部の除毛を行い，背部の血管の見えない末梢血管領域の血流量を30分間測定した。血流量は30分間の平均値とした。血流量の測定は松田ら⁶⁾の方法に従い正常マウスでは，単回投与は漢方湯液投与3日前に血流量を測定し，この値をコントロールとして増減を比較した。また，反復投与は漢方湯液投与開始前日に血流量を測定し，この値をコントロールとした。なお，血流量は組織 100 g 当たり1分間に流れる量 ml/min/100 g で表した。

瘀血様病態マウスについても病態マウス作成後正常マウスと同じ操作を行い，血流量を測定した。

8. 統計 統計処理は Student's *t*-test を用い， $p < 0.05$ を有意差があるとした。

結 果

1. 当帰芍薬散 Figure 1 に示したように，正常マウスでは，単回投与したとき血流量はコントロール比較すると投与前の血流量に比較して 3.1 ± 0.13 (mean \pm S.E.) ml/min/100 g 有意に増加した。また，1週間連続投与した反復投与においても $4.8 \pm 0.25 \text{ ml/min/100 g}$ 有意に増加した (Fig. 2)。瘀血マウスでは，単回投与はコントロールに比較して $2.6 \pm 0.28 \text{ ml/min/100 g}$ と有意に増加した (Fig. 3)。また，反復投与でも $5.2 \pm 0.28 \text{ ml/min/100 g}$ と有意に増加した (Fig. 4)。

2. 加味逍遥散 正常マウスでは，単回投与で $0.3 \pm 0.22 \text{ ml/min/100 g}$ 増加傾向が見られたが有意

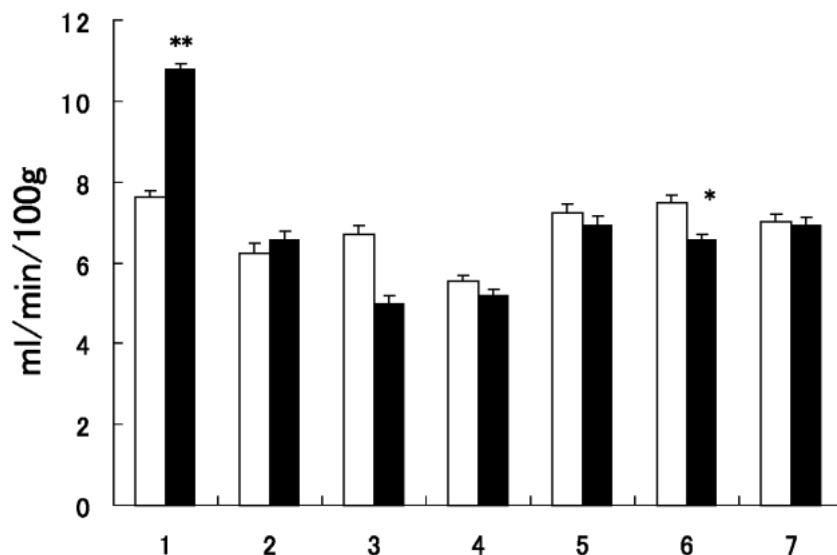


Fig. 1. Effect of Single Administration of Kampo Medicines on Periphaeral Blood Flow Rate of Normal Mice

□: control, ■: kampo medicine. 1: Toki-shakuyaku-san, 2: Kami-sho-yo-san, 3: Keishi-bukuryo-gan, 4: Daio-botanpi-to, 5: Tokaku-joki-to, 6: Goshuyu-to, 7: Hange-koboku-to.

Mice were treated *p.o.* with Kampo medicines (2 g/kg). Values represent mean \pm S.E. ($n=5-6$), *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, significantly different from control.

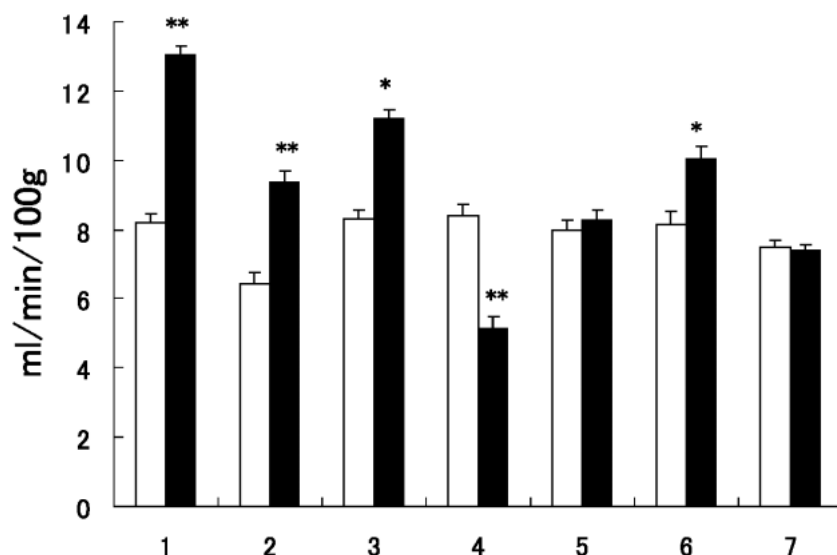


Fig. 2. Effect of Repeat Administration of Kampo Medicines on Periphaeral Blood Flow Rate of Normal Mice

□: control, ■: kampo medicine. 1: Toki-shakuyaku-san, 2: Kami-sho-yo-san, 3: Keishi-bukuryo-gan, 4: Daio-botanpi-to, 5: Tokaku-joki-to, 6: Goshuyu-to, 7: Hange-koboku-to.

Mice were treated *p.o.* with Kampo medicines (2 g/kg/day) for 7 days. Values represent mean \pm S.E. ($n=5-6$), *: $p<0.05$, **: $p<0.01$ significantly different from control.

差を示さなかった (Fig. 1). 反復投与では 2.9 ± 0.33 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 2). また, 瘀血マウスでは, 単回投与はコントロールに比較して 1.7 ± 0.39 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 3). また, 反復投与でも 2.8 ± 0.33 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 4).

3. 桂枝茯苓丸 正常マウスでは, 単回投与で

1.7 ± 0.23 ml/min/100 g 有意に減少したが (Fig. 1), 反復投与では 2.9 ± 0.26 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 2). また, 瘀血マウスでは, 単回投与はコントロールに比較して 3.3 ± 0.29 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 3). また, 反復投与でも 2.9 ± 0.39 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 4).

4. 大黄牡丹皮湯 正常マウスでは, 単回投与

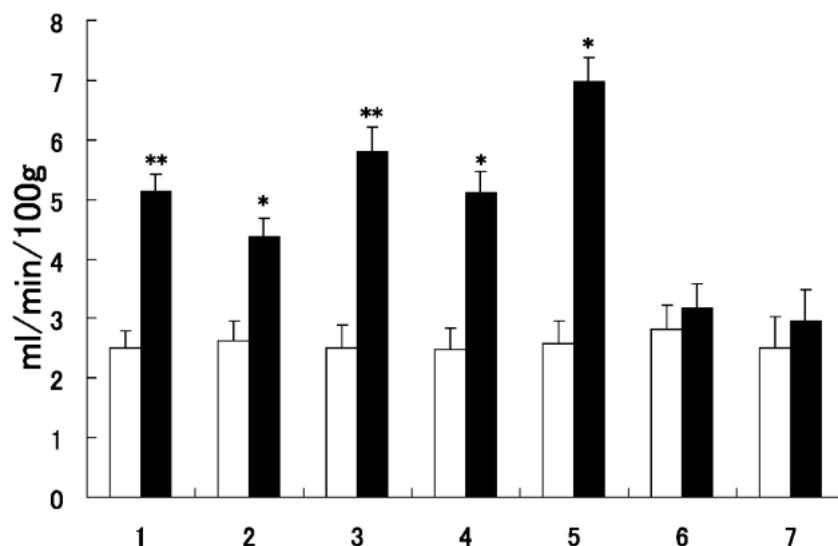


Fig. 3. Effect of Single Administration of Kampo Medicines on Periphaerbal Blood Flow Rate of Betamethasone Induced *Oketsu* Mice

□: control, ■: kampo medicine. 1: Toki-shakuyaku-san, 2: Kami-sho-yo-san, 3: Keishi-bukuryo-gan, 4: Daio-botanpi-to, 5: Tokaku-joki-to, 6: Goshuyu-to, 7: Hange-koboku-to.

Mice were treated *i.e.* with betamethasone (1.6 mg/kg/day) for 7 days. Mice were treated *p.o.* with Kampo medicines (2 g/kg). Values represent mean \pm S.E. ($n=5-6$), *: $p<0.05$, **: $p<0.01$ significantly different from control.

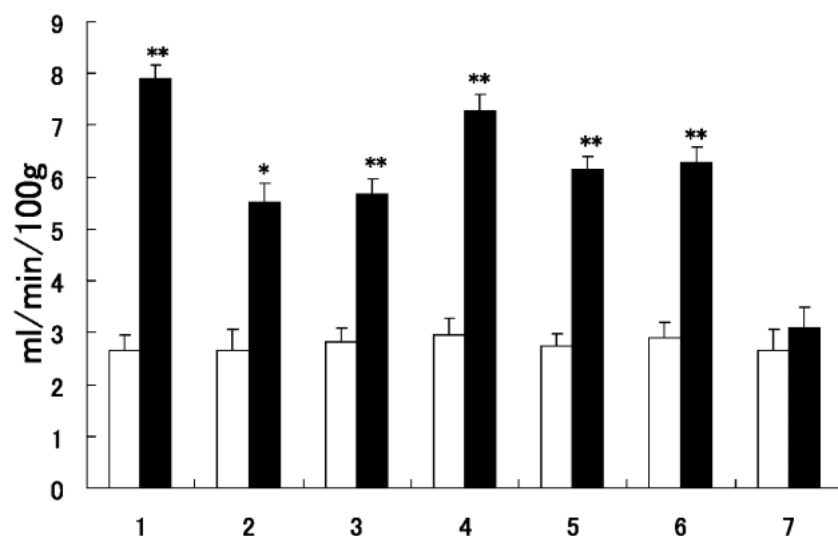


Fig. 4. Effect of Single Administration of Kampo Medicines on Periphaerbal Blood Flow Rate of Betamethasone Induced *Oketsu* Mice

□: control, ■: kampo medicine. 1: Toki-shakuyaku-san, 2: Kami-sho-yo-san, 3: Keishi-bukuryo-gan, 4: Daio-botanpi-to, 5: Tokaku-joki-to, 6: Goshuyu-to, 7: Hange-koboku-to. Mice were treated *i.e.* with betamethasone (1.6 mg/kg/day) for 7 days. Mice were treated *p.o.* with Kampo medicines (2 g/kg/day) for 7 days. Values represent mean \pm S.E. ($n=5-6$), **: $p<0.01$ significantly different from control.

でほとんど増減しなかった (Fig. 1). 反復投与においては 3.3 ± 0.32 ml/min/100 g と有意に減少した (Fig. 2). また、瘀血マウスでは、単回投与はコントロールに比して 2.6 ± 0.31 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 3). また、反復投与でも 4.3 ± 0.36 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 4).

5. 桃核承気湯 単回投与及び反復投与においてそれぞれほとんど変化が認められなかった (Figs. 1, 2). また、瘀血マウスでは、単回投与はコントロールに比較して 4.4 ± 0.24 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 3). また、反復投与でも 3.4 ± 0.39 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 4).

6. 呉茱萸湯 正常マウスでは、単回経口投与ではコントロールと比較すると 1.0 ± 0.16 ml/min/100 g 有意に減少した (Fig. 1). しかし、反復投与では投与前に比べ 1.9 ± 0.36 ml/min/100 g 有意に増加した (Fig. 2). また、瘀血マウスへの単回投与では血流量に変化はなく (Fig. 3), 反復投与でコントロールの値に比べ呉茱萸湯投与の値が 3.4 ± 0.41 mg/ml/100 g 有意に増加した (Fig. 4).

7. 半夏厚朴湯 単回投与及び反復投与においてそれぞれほとんど変化が認められなかった (Figs. 1, 2). また、瘀血マウスでも、単回投与及び反復投与でコントロールとほとんど変化が認められなかった (Figs. 3, 4).

考 察

レーザードップラー血流量計を用い漢方湯液の末梢血流量に対する影響を瘀血及び正常マウスで検討を行った.

Kikuchi ら²⁾は瘀血患者に対しレーザードップラー血流計を用いて皮膚末梢血流量を測定し、瘀血が進行するにつれて血流量が減少することを見出し、この結果が寺澤の“瘀血スコア診断基準”⁷⁾を基に行った診断結果と一致することを報告している. このことから皮膚末梢血流量の減少は瘀血と密接な関係があると考えられる.

そこで瘀血マウス及び正常マウスを用いて7種の漢方湯液すなわち当帰芍薬散、加味逍遥散、桂枝茯苓丸、大黄牡丹皮湯、桃核承気湯、呉茱萸湯及び半夏厚朴湯の末梢血流量に対する影響を検討した.

その結果、抗不安薬などとして用いられている半夏厚朴湯では瘀血マウス及び正常マウスの血流量に影響を与えなかった. 正常マウスの単回投与では当帰芍薬散のみ血流量の増加が見られ、反復投与では半夏厚朴湯及び大黄牡丹皮湯を除く5処方では血流量の増加が認められた. また、瘀血マウスでは、婦人病薬として主に用いられている5処方すなわち当帰芍薬散、加味逍遥散、桂枝茯苓丸、大黄牡丹皮湯、桃核承気湯において単回投与及び反復投与ともに血流量の増加が認められた. 桂枝茯苓丸については

Nagai ら⁴⁾によりベタメタゾンで処理したマウスではシアル酸が増加していること、桂枝茯苓丸が赤血球膜シアリダーゼ活性阻害に参与していることが報告されている. このシアリダーゼによる血液異常を改善し、血流量が増加したものと思われる. 松田らが熟地黄で血流量が単回投与で増加せず反復投与で増加していることから血液粘度減少作用が、生地黄で単回投与のみが増加していることから血管拡張作用があることを報告している.⁶⁾ このことから当帰芍薬散では血流量が正常マウスと瘀血マウスの単回投与及び反復投与で血流量が増加していることから、血管拡張作用と血流と密接な関係のある血液レオロジーを介した作用が、また加味逍遥散及び大黄牡丹皮湯では正常マウスの単回投与で変化がなく瘀血マウスで血流量が増加していることから血液レオロジーを介した作用により血流が増加したものと考えられる.

さらに、今後この作用が個々の生薬の成分によるものか、又は生薬間の成分相互作用によるものなのか検討を行う予定である.

REFERENCES

- 1) Kaneko J., "Masshoujunkanshougai", Vol. 29, Nakayamashoten, Tokyo, 1992, pp. 220-227.
- 2) Kikuchi K., Shibahara N., Shimada Y., Kita T., Ito T., Terasawa K., *J. Trad. Med.*, **15**, 127-134 (1998).
- 3) Tani T., Iwanaga M., Higashino M., Kubo M., Arichi S., *Shoyakugaku Zasshi*, **38**, 166-174 (1984).
- 4) Nagai T., Chen X.-G., Yamada H., *J. Trad. Med.*, **12**, 195-201 (1995).
- 5) Murayama M., Miura T., Bando H., *Folia Pharmacol. Jpn.*, **108**, 203-216 (1996).
- 6) Matsuda H., Asano T., Kubo M., *J. Trad. Med.*, **12**, 250-256 (1995).
- 7) Terasawa K., Shinoda H., Imadaya A., Tosa H., Bandoh M., Sato N., *Int. J. Oriental Med.*, **14**, 194-213 (1989).