尾部懸垂ラットへの杜仲樹皮エキスの投与が血清
テストステロン濃度に及ぼす影響

曲 剛 健* 金子 浩** 海老根直之** 北 加代子** 富田 誠次**
三上 俊夫* 田崎 洋佑** 伊 藤 朗**

EFFECTS OF TU-CHUNG EXTRACT ADMINISTRATION ON SERUM
TESTOSTERONE IN HINDLIMB-SUSPENDED RATS

GANG-JIAN QU, HIROSHI KANEKO, NAOYUKI EBINE, KAYOKO KITA, SEIJI TOMITA,
TOSHIO MIKAMI, YOUSUKE TASAKI and AKIRA ITO

Abstract

The purpose of this research was to study the effects of Tu-Chung extract (*Eucommia ulmoides* OLIV.) administration on serum testosterone and the possible mechanisms in hindlimb-suspended rats. 25 five-week old male Wistar rats were used. All rats were randomly divided into two groups: those treated with Tu-Chung extract (Tu-Chung G, n=suspended for 37 days in hindlimb. 1 mg/ml Tu-Chung extract was administered orally once daily at a dose of 1 ml/100 g body weight. Distilled water was administered in a similar way to the control group. The following results were observed:

1. Serum testosterone concentration in Tu-Chung G was significantly higher than in Cont. G ($P<0.001$).
2. There was no significant difference between Tu-Chung G and Cont. G in serum LH concentrations.
3. The Testicular cAMP level in Tu-Chung G was significantly higher than that in Cont. G ($P<0.01$).
4. 24-h urinary excretion of 17-ketosteroid in Tu-Chung G was significantly higher than that in Cont. G ($P<0.001$).
5. There were no significant differences between the two groups in the weights per body weight of the kidneys, adrenal gland and testes. These results suggest that the administration of Tu-Chung extract inducing high serum testosterone concentrations in hindlimb-suspended rats might be due to enhanced testicular and adrenal functions, not pituitary.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 1999, 48: 501~508)

key words: hindlimb-suspended rats, Tu-Chung extract, testosterone, cAMP, LH

I. 緒 言

ラットの尾部懸垂は無重力状態のシュミレーション、連続ストレス(拘束)および筋萎縮(不活動)のモデルとして知られており、この実験モデルを用いた組織化学的研究、酸化系および解糖系の酵素活性に関する研究、内分泌系に関する研究

など数多くの研究が行われている^{1~5)}。このうち、内分泌系に関する研究では、ラットを尾部懸垂することにより副腎の肥大、精巣の萎縮、テストステロンの分泌低下が生ずることが報告されている^{6~9)}。このことは、尾部懸垂による強度のストレスにより性ホルモン分泌器官の機能低下が引き起こされることを示している。このような状態

* 日本医科大学スポーツ科学教室
〒211-0063 川崎市中区小杉町2-297-2

** 筑波大学体育科学系
〒305-8574 茨城県つくば市天王台1-1-1

Department of Health and Sports Sciences, Nippon Medical School

Institute of Health and Sports Sciences, University of Tsukuba

の尾部懸垂マウスに杜仲樹皮エキスおよびその主成分であるイリドイド類を投与すると、尾部懸垂により引き起こされる学習行動や性行動の低下が抑制されるという報告がある^{10,11)}。ここで用いられた杜仲 (Tu-Chung; *Eucommia ulmoides* OLIV.) は、トチュウ科に属す落葉高木樹で、その樹皮は漢方医学において古くから強壮・強精の薬として用いられてきている^{12~15)} 生薬の一つである。杜仲の薬理作用には鎮痛、鎮静、利尿などが報告されており^{16~21)}、さらに滋養強壮・強精作用、副腎および精巣の重量増大、学習行動(記憶)低下および性行動低下の抑制、テストステロンの分泌増加、肝臓内グリコーゲンの増加なども報告されている^{22~26)}。

我々も数年来この杜仲樹皮エキスに関する研究を続けてきており、これまでに以下の結果を報告してきた。雄ラットに杜仲樹皮エキスを投与しつつ自発運動トレーニングを実施すると、精巣重量の増大、テストステロン分泌の増加、骨格筋でのタンパク質合成が亢進する²⁷⁾。去勢雄ラットに杜仲樹皮エキスを投与すると副腎性アンドロゲン分泌が亢進する²⁸⁾。さらに、杜仲樹皮エキスを投与して運動トレーニングを負荷したラットにおいては副腎皮質網状層が適応能力を増す²⁹⁾。

これらの先行研究を踏まえて本研究では、これまで我々が報告してきた杜仲樹皮エキスのテストステロン分泌に対する促進作用が、ストレス条件下でも発揮されるか否かについて検討することを目的とした。そのためラットを尾部懸垂という強度のストレス条件下で飼育して、この時に引き起こされるテストステロン分泌の低下に対して杜仲樹皮エキス投与が抑制効果を持つか否かについて検討した。この時、テストステロン分泌に関連する幾つかのホルモン動態についても調べ、杜仲樹皮エキスのテストステロン分泌促進作用の機序についても検討した。

Ⅱ. 実験方法

A. 実験動物および飼育条件

1. 実験動物

実験動物には5週令のWistar系雄ラット25匹を用いた。これらを以下に示す尾部懸垂を施し杜仲樹皮エキスを投与する群(n=12, 以下杜仲群)と尾部懸垂を施し蒸留水を投与する群(n=13, 以下対照群)に無作為に分けた。

実験期間中の水と飼料(オリエンタル酵母工業、実験動物用標準固形飼料 MF)は自由摂取とした。また飼育環境は室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $60 \pm 5\%$ 、照明は午前8時30分と午後8時30分を境とする12時間の明暗サイクルに設定した。

2. 尾部懸垂方法

ラットの尾を消毒した後、尾を傷つけないために伸縮性テープを巻き、その上からワイヤーを伸縮性テープで巻いて尾に固定した。その際、尾の血流が阻止されていないことを確認した。尾に固定したワイヤーの先は、サル環を介して飼育用ケージに固定したもう一本のワイヤーとつないで飼育用ケージの天井中央部に固定し、ラットが前肢でケージ内の床面を 360° 自由に動き回ることができるようにした。懸垂期間は37日間とした。

B. 杜仲樹皮エキスの調整法

杜仲樹皮エキスの調整法は、先行研究^{28,29)}に従って行った。まず生薬を5%のNaCl水溶液に浸し、1時間放置後に 160°C で70分間乾燥してゴム状の白い糸(グッタペルカ)を消失させ、「塩杜仲」を作製した。この「塩杜仲」100gに対し蒸留水を1lの割合で加え、 100°C で煮沸してエキスを抽出し、この抽出液を濾過した。残った残渣には蒸留水を加えて再び上記同様にエキスを抽出し、この抽出作業を3回繰り返して3回の濾液を混合した。この混合液を煮沸濃縮して、生薬1g/ml濃度に杜仲樹皮エキスを調整し、褐色瓶に入れ冷暗所に保存した。

C. 実験手順

1. 杜仲樹皮エキスの投与方法

杜仲樹皮エキスおよび蒸留水の投与方法は、小動物用胃ゾンデを用いて、体重 100 g あたり 1 ml の割合で37日間の尾部懸垂の期間中、1日1回毎日経口投与した。

2. 採尿および採血

懸垂終了直後にラットをラット用代謝ケージ(夏目製作所 KK 製)に移し、2日間(48時間)個別に飼育して採尿し、得られたサンプルの2分の1を24時間尿量とした。この間も杜仲樹皮エキスを経口投与した。

血液検体は、採尿終了時の午後1時にエーテル麻酔下で、下大動脈から採取した。ホルモン分泌には日内変動があるので、午後1～2時の間に全てのラットの採血が終了するように行った。採取した血液は、3000 rpm で10分間遠心分離を行い血清を分離して、分析まで -80°C で冷凍保存した。

臓器の摘出は、採血終了直後に行った。摘出後速やかに組織に付着した結合組織と脂肪組織を取り除いて重量を測定し、体重 100 g 当りの臓器比重量を求めた。また睪丸は重量を測定した後、直ちに液体窒素中に浸し、分析まで -80°C 下で冷凍保存した。

3. 測定項目および測定方法

血中化学成分および尿中化学成分の測定項目と測定方法は以下の通りである。血清テストステロンは DPC・トータルテストステロンキット(日本 DPC)、血清黄体形成ホルモン(以下 LH と略す)はラット LH キット(アマシャム)、血清副腎皮質刺激ホルモン(以下 ACTH と略す)は DPC・ACTH キット(日本 DPC)を用いて測定した。

尿中17-ケトステロイド(以下 17-KS と略す)濃度は酵素水解法³⁰⁾にて測定し、測定した濃度に24時間尿量を乗じ、24時間の尿中17-KS 排泄量を求めた。

睪丸の cyclic AMP (以下 cAMP と略)含量は cAMP EIA キット(Cayman Chemical, USA)を用いて測定した。分析のための抽出処理は、キットの規定に従った。その手順は以下の通りである。睪丸重量を計量後、等量のリン酸緩衝液(pH 7.5)

と10倍量の氷冷した 12% trichloroacetic acid 中で2分間ホモジナイズした。次いで 4°C 、1500 rpm で10分間遠心分離して得られた上清にエチルエーテルを加えて 70°C で10分間加温してエチルエーテルを除去した後、残った水溶液中の cAMP 濃度を測定した。

D. 統計処理

各項目値は、すべて平均値 $\pm$ 標準偏差(mean $\pm$ SD)で示した。各群の有意差検定には二元配置の分散分析を用い、有意な F 値が得られたときフィッシャーの方法を用いて多重比較を行った。なお、有意水準は危険率 5 % 以下($p < 0.05$)とした。

III. 結 果

A. 体重と臓器比重量

体重は杜仲群(239.5 ± 20.3 g)、対照群(237.0 ± 23.3 g)の両群間に有意差を認めなかった。腎臓比重量(左右の合計)は、杜仲群が 1.00 ± 0.06 g/100 g 体重で、対照群が 1.47 ± 0.07 g/100 g 体重であった。副腎比重量(左右の合計)は、杜仲群が 29.9 ± 7.7 mg/100 g 体重で、対照群が 29.2 ± 8.8 mg/100 g 体重であった。睪丸比重量(左右の合計)は、杜仲群が 0.39 ± 0.04 g/100 g 体重で、対照群が 0.39 ± 0.03 g/100 g 体重であった。いずれの臓器においても有意な差は認められなかった。

B. 血清テストステロン濃度

両群の血清テストステロン濃度を Fig. 1 に示した。杜仲群(167.0 ± 67.7 ng/dl)は、対照群(82.0 ± 42.9 ng/dl)に比し有意な高値($p < 0.001$)を示した。

C. 睪丸 cAMP 含量

両群の睪丸中の cAMP 含量を Fig. 2 に示した。杜仲群(9.3 ± 1.8 pmol/g 湿重量)は対照群(5.6 ± 0.9 pmol/g 湿重量)に比し有意な高値($p < 0.01$)を示した。

Fig. 1. Comparisons of serum testosterone concentrations in hindlimb-suspended rats with Tu-chung extract or distilled water administering for 37 days.

Values are mean $\pm$ SD.

***: $p < 0.001$.

Fig. 2. Comparison of testicular cyclicAMP (cAMP) in hindlimb-suspended rats with Tu-chung extract or distilled water administering for 37 days.

Values are mean $\pm$ SD.

***: $p < 0.01$.

D. 血中 LH 値

両群の血清 LH 濃度は杜仲群 (3.1 ± 1.2 ng/ml) がやや高値を示したものの、対照群 (2.8 ± 1.1 ng/ml) との間には有意差は認められなかった。

Fig. 3. Comparisons of 24 hr urinary 17-KS excretion in hindlimb-suspended rats with Tu-chung extract or distilled water administering for 37 days.

Values are mean $\pm$ SD.

***: $p < 0.001$.

E. 尿中17-ケステロイド排泄量

両群の24時間尿中 17-KS 排泄量を Fig. 3 に示した。杜仲群 (106 ± 25 μ g/day) は対照群 (60 ± 16 μ g/day) に比し有意な排泄増加 ($p < 0.001$) を示した。

F. 血清 ACTH 濃度

両群の血清 ACTH 濃度は杜仲群 (94.4 ± 45.2 pg/ml) がやや低値を示したが、対照群 (111.2 ± 53.2 pg/ml) との間に有意差は認められなかった。

IV. 考 察

本研究では、5週令の雄ラットに37日間の尾部懸垂を行い、その間の杜仲樹皮エキス投与の有無が血清テストステロン濃度に及ぼす影響およびその作用機序について検討した。

無重量状態またはそれを実験的にシュミレーションする尾部懸垂は、生体に強いストレスをもたらす。尾部懸垂がもたらす生体への影響としては、尾部懸垂によって性行動の低下および健忘症候群 (記憶の消去促進および記憶の再現失敗の増加) が起こること¹⁰⁾、また尾部懸垂によるストレスがラットの副腎肥大と睾丸萎縮を引き起こ

し、それに伴うコルチコステロンの分泌亢進とテストステロンの分泌低下をもたらし、それには廃用性筋萎縮が関与していることが報告されている⁶⁻⁹⁾。

我々はこれまでに、雄ラットに杜仲葉エキスを投与しながら自発運動を5週間継続させることにより、無投与に比し精巣比重量の増加、テストステロン分泌の増加が生ずることを報告している²⁷⁾。また、強制走運動負荷条件下のラットに対する杜仲樹皮エキスの投与、杜仲樹皮エキスイリドイド類(杜仲樹皮エキスの主成分の一つ)の投与、およびイリドイド類の単独投与は、いずれも精巣比重量の増加とテストステロン分泌の増加をもたらすことを報告している²⁹⁾。本研究においても、血清テストステロン濃度は杜仲投与群が無投与の対照群に比して約2倍の有意な($p < 0.001$)高値を示し(Fig. 1)、我々のこれまでの実験結果と同様に、杜仲樹皮エキス投与はテストステロン分泌を高めることが示された。性ホルモン分泌に対する杜仲樹皮エキス投与の我々の結果は、尾部懸垂条件で継続的にストレスを負荷したマウスに杜仲樹皮エキスおよびその主成分であるイリドイド類を投与すると、尾部懸垂により引き起こされる学習行動や性行動の低下が抑制されるという今井らの報告^{10,11)}と一致するものであった。

テストステロンは、精巣の間質細胞(Leydig細胞)内でコレステロールから合成される。また、テストステロンの生合成は、下垂体前葉ホルモンであるLHによって調節されている。Leydig細胞の細胞膜に存在するLHの受容体は、LHと結合するとアデニル酸シクラーゼを活性化し、活性化されたアデニル酸シクラーゼはアデノシン三リン酸(ATP)をcAMPへ変換させる。cAMPは細胞質中にある不活性化状態のプロテインキナーゼを活性化し、活性化型プロテインキナーゼはタンパク質のリン酸化反応を介して、主としてコレステロールからプレグネノロンが生成される段階を刺激し、テストステロンの産生を促進させる³¹⁻³³⁾。本実験における睾丸中のcAMP含量は、杜仲樹皮エキス投与により無投与に比して有

意な($p < 0.01$)高値を示した(Fig. 2)。したがって、本実験の睾丸cAMP含量の結果は血清テストステロン濃度の結果と一致し、血清テストステロン濃度の増加は、杜仲樹皮エキス投与が睾丸のアデニル酸シクラーゼの活性を高め、cAMPの濃度を増加させたことに関係することが示唆された。

一方、本実験の血清LH濃度は杜仲樹皮エキス投与の有無で有意な差が認められなかった。このことは、本実験の血清テストステロン濃度の変化はLHの変動とは関係なく、LHの精巣への作用を介したものと異なることが考えられ、杜仲樹皮エキスが精巣に直接作用した可能性が考えられた。杜仲樹皮エキス投与が中枢からの刺激を介さずに直接的に内分泌器官に対して影響を及ぼすことは先行研究においても示されている。齊藤らは¹⁰⁾、マウスへの尾部懸垂のストレス負荷により性行動の低下および健忘症様徴候が生じ、この際に副腎の肥大と副腎および視床下部のtyrosine hydroxylase活性の増大が認められることを報告した。そして、このマウスへの杜仲投与は性行動の低下抑制をもたらしたが、この際のtyrosine hydroxylase活性には変化が認められなかったことを報告している。また今井らは¹¹⁾、杜仲の主成分であるイリドイド配糖体を尾部懸垂マウスに投与すると、性行動の低下に対し強い抑制効果があったことを認めているが、この時に中枢および下垂体に対しては影響を認めなかったと報告している。しかし、LHの分泌にはパルス分泌の特徴があること³³⁾、さらにもし杜仲樹皮エキス中の特定成分が直接的に精巣に作用するとすれば、どのような機構により作用するのかについては不明であり、今後さらに詳細な検討が必要である。

尿中17-KS排泄量は、副腎性、精巣性(卵巣性)の性ホルモンの代謝産物であり、男性(オス)では尿中17-KSのうち睾丸に由来するものは20~30%で、残り70~80は副腎由来である^{32,33)}。馬らは²³⁻²⁵⁾、杜仲葉エキスの投与により副腎比重量が有意に増加すること、また、衰弱ラットに杜仲葉エキスを連続投与すると、諸症状の改善効果がみられるとともに副腎皮質網状層の厚さが有意に増加することを報告している。我々は²⁸⁾、去

勢雄ラットを用いて, 杜仲樹皮エキス投与が強制運動負荷による尿中 17-KS 排泄量の低下を抑制することを報告している。また, 杜仲樹皮エキス含有成分のイリドイド類および杜仲樹皮エキスの投与が, 副腎皮質の網状層の厚さの増加に関与することも報告している²⁹⁾。しかし, こうした杜仲樹皮エキスの薬理作用が副腎皮質網状層に直接作用したためのものなのか, あるいは下垂体に作用して ACTH の分泌増加を引き起こした結果によるものなのかについては定かではなかった。本実験の尿中 17-KS 排泄量は, 杜仲樹皮エキス投与が無投与に比して有意な ($p < 0.001$) 高値を示し, 杜仲樹皮エキス投与は尾部懸垂ラットにおいても性ホルモン分泌を亢進させることが示された (Fig. 3)。さらに今回は血清 ACTH 濃度についても調べてみたところ, 血清 ACTH 濃度では杜仲樹皮エキスの投与の有無による有意差は認められなかった。このことは, 杜仲樹皮エキスの投与による尿中 17-KS 排泄量の有意な増加は, 下垂体からの ACTH 分泌を介した作用ではなく, 先に述べたテストステロン分泌に対する影響と同様に, 杜仲樹皮エキスが直接的に副腎皮質網状層に作用した可能性を示唆している。しかしこの点に関しても先のテストステロン分泌と同様, 今後の詳細な研究が必要と考えている。

本研究の腎臓, 副腎, 精巣の比重量は, 杜仲樹皮エキス投与による差がみられず, 我々の先行研究での杜仲樹皮エキス投与が臓器比重量を増加させた結果^{28,29)}とは異なった。この相違は実験条件の違いによるものと考えられる。すなわち, 先行研究では正常飼育や正常飼育+強制走運動負荷の実験条件であるのに対し, 本研究では尾部懸垂という強度のストレスをラットに負荷しており, これにより摂餌量の減少と, それに伴う低栄養状態が引き起こされたことが比重量の結果の違いをもたらした原因と考えられた。

V. 総 括

本研究では, 尾部懸垂を施したラットへの杜仲樹皮エキスの投与が血清テストステロン濃度には及ぼす影響およびその作用機序について検討した。

実験動物は, 5 週令の Wistar 系雄ラット 25 匹を用いた。これらを尾部懸垂を 37 日間実施し杜仲樹皮エキスを投与する群 (杜仲群, $n=12$) と, 尾部懸垂を施し杜仲樹皮エキスの代わりに蒸留水を投与する群 (対照群, $n=13$) に無作為に分けた。杜仲樹皮エキスは生薬 1 g/ml の濃度に調整し, 体重 100 g 当たり 1 ml の割合で 1 日 1 回経口投与した。対照群は, 同様の方法で蒸留水を投与した。

結果は, 以下に示すとおりである。

1. 尾部懸垂を施したラットに杜仲樹皮エキスを投与した場合, 腎臓, 副腎, 精巣の比重量には有意な差は認められなかった。
2. 血清テストステロン濃度は, 杜仲群が対照群に比し有意な高値 ($p < 0.001$) を示した。
3. 睪丸の cAMP 含量は, 杜仲群が対照群に比し有意な高値 ($p < 0.01$) を示した。
4. 血中 LH 濃度は, 両群間に有意な差が認められなかった。
5. 24 時間尿中 17-KS 量は, 杜仲群が対照群に比し有意な高値 ($p < 0.001$) を示した。
6. 血清 ACTH 濃度には両群間に有意な差は認められなかった。

以上の結果より, 杜仲樹皮エキスの性腺および副腎皮質に対する影響は, 中枢, 下垂体を介した作用では説明できず, 杜仲樹皮エキス投与が直接的に睪丸および副腎皮質に作用した結果による可能性が考えられた。

(受理日 平成 11 年 6 月 14 日)

VI. 参 考 文 献

- 1) Grindeland, R. E., Roy, R. R., Edgerton, V. R., Grossman, E. J., Muuku, V. R., Jiang, B., Pierotti, D. J., and Rudolph, I. Interactive effects of growth hormone and exercise on muscle mass in suspended rats. *Am. J. physiol.*, (1994), **267**, 316-322.
- 2) Tsika, R. W., Herrick, R. E., and Baldwin, K. M. Effect of anabolic steroids on overloaded and overloaded suspended skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* (1987), **63**, 2128-2133.
- 3) Tsika, R. W., Herrick, R. E., and Baldwin, K. M. Effect of anabolic steroid on skeletal muscle mass during hindlimb suspension. *J. Appl. Physiol.* (1987), **63**, 2122-2127.

- 4) 齊藤綾子, 奥本 正, 中野裕史, 勝田 茂. 後肢懸垂によるラットヒラメ筋線維と支配運動ニューロンの経時的变化. 体力科学, (1995), **44**, 531-540.
- 5) 藤井儋子, 小山良修. 動物実験手技. 協同医書出版社, 東京, (1975), 385-414.
- 6) 宮本法博, 野村由夫, 末田香里, 今井常夫, 丹羽靖, 神部福司, 井上 達, 村田善晴, 妹尾久夫, 松井信夫. ラット尾部懸垂時の筋萎縮と副腎皮質ホルモンおよび性ホルモンの変化. 名古屋大学学会抄録, (1985), 185.
- 7) 宮本法博, 野村由夫, 末田香里, 今井常夫, 丹羽靖, 神部福司, 井上 達, 村田善晴, 妹尾久夫, 松井信夫. ラット後肢筋の廃用萎縮におけるステロイドホルモンの関与—尾部懸垂モデルを用いた検討—. 環研年報, (1989), **XL**, 9-10.
- 8) 宮本法博, 野村由夫, 末田香里, 今井常夫, 丹羽靖, 神部福司, 井上 達, 村田善晴, 妹尾久夫, 松井信夫. ラット尾部懸垂時の後肢筋の変化と内分泌系の変動 pair-feeding の場合. 環研年報, (1990), **XLI**, 3-5.
- 9) 宮本法博, 野村由夫, 末田香里, 今井常夫, 丹羽靖, 神部福司, 井上 達, 村田善晴, 妹尾久夫, 松井信夫. ラット尾部懸垂時の後肢筋萎縮に及ぼす睾丸摘除の影響. 環研年報, (1992), **XL III**, 1-2.
- 10) 斎藤 洋, 亀ヶ谷俊彦, 西山信好, 松山稲子, 奥山 徹, 柴田承二, 藤岡章二, 今井俊司, 貴志豊司. 慢性ストレス負荷マウスの学習及び性行動に対する杜仲及びその成分の影響. 日本薬学会第103回年会講演旨集, (1983), 270.
- 11) 今井孝司, 貴志豊司, 井上博之, 西山信好, 斎藤洋. 連続ストレス負荷マウスの性行動及び学習行動に対するイリドイドの影響. 薬学雑誌, (1988), **108**, 572-585.
- 12) 中山医学院編(神戸中医学会訳). 漢薬の臨床応用. 医歯薬出版, 東京, (1979), 336.
- 13) 魏・呉普等述, 清・孫 星行 孫 馮翼輯. 神農本草經. 商務印書館, (1985), 北京, 43.
- 14) 江蘇新医学院. 中薬大辞典. 上海科学技術出版社, (1977), 上海, 1031-1033.
- 15) 中華人民共和国衛生部薬典委員会. 中華人民共和国薬典. 人民衛生出版社, (1977), 北京, 285.
- 16) Brown, B. T. and Pilch, A. H. The effects of exercise and dianabol upon selected performances and physiological parameters in the male rats. Med. Sci. Sports. (1972), **4**, 159-165.
- 17) Charles, J. S., Ravikumar, P. R., and Huang, F. C. Isolation and synthesis of pinorensol diglucoside, a major antihypertensive principle of Tu-Chung (Eucommia ulmoides, Oliver.) J. A.M. Chem. Soc. (1976), **98**, 5412-5413.
- 18) 簡 東緒. 杜仲 (Eucommia ulmoides OLIV.) の薬理作用について. 日本薬理学雑誌, (1956), **52**, 187.
- 19) 難波恒雄, 服部征雄, 葉加南, 馬永華, 野村靖幸, 金子周司, 北村佳久, 小泉 保, 片山和憲. 杜仲葉の研究 (I), 水抽出画分の一般薬理作用. 和漢医薬学誌, (1986), **3**, 89-97.
- 20) 呉 麗青, 張 藜明. 杜仲葉和杜仲皮的薬理実験. 中草薬, (1986), **17**, 15-18.
- 21) 山抱基純, 中沢慶久, 下山明美, 志摩宣行, 松田光代, 紙野康美. 杜仲葉成分の分析. 日立造船技報, (1990), **51**, 34-38.
- 22) 陳 廉, 常 複蓉, 王 殿俊, 華 玉棋, 葉 其正, 徐 健嬌, 張 如蘭, 季 錫中. 杜仲皮和葉的對比実験研究. 南京中医学院学报, (1986), **2**, 40-43.
- 23) 馬 永華, 葉 加南, 服部征雄, 金子周司, 野村靖幸, 若木邦彦, 難波恒雄. 杜仲葉の研究 (II) 水抽出画分の一般薬理作用. 和漢医薬学会誌, (1986), **3**, 89-97.
- 24) 馬 永華, 葉 加南, 服部征雄, 金子周司, 野村靖幸, 若木邦彦, 難波恒雄. 杜仲葉の研究 (III) 杜仲葉水エスキ長期投与によるラットへの影響について. 和漢医薬学会誌, (1987), **4**, 26-34.
- 25) 馬 永華, 葉 加南, 服部征雄, 金子周司, 野村靖幸, 倉茂洋一, 若木邦彦, 難波恒雄. 杜仲葉の研究 (V) —セナナ長期投与による虚弱ラットへの杜仲葉水エキスの影響について—. 和漢医薬学会誌, (1987), **4**, 180-191.
- 26) 塩谷正勝, 佐藤常男, 白井 弥, 平 敬宏, 高橋周七. 産卵鶏の加齢変化に対する杜仲葉の長期投与の影響. 和漢医薬学会誌, (1990), **7**, 18-23.
- 27) 曲 剛健, 布施孝介, 高 建十, 田崎洋佑, 伊藤朗. 杜仲葉抽出エキスの投与が運動雄ラットの筋肥大に及ぼす影響. 筑波大学体育科学系紀要, (1997), **20**, 163-173.
- 28) 曲 剛健, 高 建十, 田崎洋佑, 伊藤 朗. 杜仲樹皮エキスのアナボリック効果に関する研究—去勢ラットにおける検討—. 体力科学, (1997), **46**, 263-272.
- 29) 曲 剛健, 高 建十, 田崎洋佑, 伊藤 朗. 杜仲樹皮エキスの投与が運動ラットの性腺—副腎皮質に及ぼす影響. 体力科学, (1997), **46**, 311-320.
- 30) 磯江真人, 石田 孝, 内田清春, 平泉 孝, 赤石清美, 塚田孝子. リンゴ貝ステロイド抱合体水分解酵素について—主に 17-KS について. 臨床病理, (1984), 357.
- 31) 井林 博. 医学, 生物学のための有機化学(第5巻) ステロイドホルモンの生合成と代謝. 朝倉書店, (1971), 153-201.
- 32) 屋形 稔. 尿中17-ケトステロイド(17-KS)とその分画. 日本臨床, (1989), **47**, 1242-1245.
- 33) 入来正躬, 外山敬介. 生理学2. 文光堂, (1976), 東京, 632-636.