原著

ブシ末単独服用による酸化度・抗酸化力の変化について

中永士師明

秋田大学大学院医学系研究科医学専攻，病態制御医学系 救急・集中治療医学講座，秋田，〒010-8543 秋田市本道1-1-1

Clinical Evaluation of Oxidative Stress after Taking Powdered Processed Aconiti Tuber

Hajime NAKAE

Department of Emergency and Critical Care Medicine, Akita University Graduate School of Medicine, Akita University School of Medicine, 1-1-1 Hondo, Akita 010-8543, Japan

Abstract

‘Processed *bushi* powder for ethical dispensing’, or TJ-3022, is an Aconiti tuber (PAT) herbal drug, and TJ-3023 is newly-developed to contain a higher proportion of diester aconitine alkaloid. We measured reactive oxygen metabolite derivative levels (d-ROMs tests), and total antioxidant capacity (OXY-adsorbent tests) in healthy adult volunteers, to assess whether PAT affects the oxidative stress regulation system. Thirty-four subjects were assigned to one of two groups: a TJ-3022 group and a TJ-3023 group. No significant chronological differences were observed in the TJ-3022 group. No significant chronological differences were observed in the TJ-3023 group, either. These results indicate that PAT does not affect the oxidative stress regulation system in humans.

Key words : oxidative stress, total antioxidant capacity, processed Aconiti tuber

要旨

2種類のブシ末製剤を単独で服用した場合の酸化ストレス度と抗酸化力を測定し，経時変化について検討した。健康人34例を2群に分けて2種類のブシ末製剤（TJ-3022，TJ-3023）3g/日を3日間服用し，服用直前，服用90分後，服用72時間後に酸化ストレス度（d-ROMsテスト）と抗酸化力（OXY吸着テスト）を測定した。TJ-3022群では酸化ストレス度と抗酸化力の有意な経時的変化はみられなかった。TJ-3023群でも酸化ストレス度と抗酸化力の有意な経時的変化はみられなかった。附子服用量3g/日では酸化ストレスに影響を及ぼさないことが示唆された。

キーワード：附子，酸化ストレス，抗酸化力

緒言

附子はトリカブト属植物の塊根から調整され，鎮痛，温熱，新陳代謝賦活，強心，利尿などの作用を目的に臨床使用される¹⁾。一概にブシ末製剤といっても原料によって効能が異なる。TJ-3022は原料がハナトリカブトだけであり，TJ-3023はハナトリカブトとオクトリカブトを一定比率で混合させている。附子の成分中，メサコニチン，ヒパコニチン，アコニチン，ジェサコニチンの4つが鎮痛効果を発揮する代表的なアルカロイドであるが，ハナトリカブトにはジェサコニチンが含有されていない。鎮痛効果や抗アロデニア効果を検討する動物実験において

TJ-3022より TJ-3023の方が高い効力を示すことが報告されている²⁾。我々も TJ-3022と TJ-3023を比べると TJ-3023にのみジェサコニチンが検出されることを報告している³⁾。

酸化ストレスとは生体内で発生する活性酸素種・フリーラジカルを含む酸化物質の生成と抗酸化反応のバランスが崩れ，酸化促進物質が優勢になった状態と定義されており，種々の疾患の発症と進展に関与している。生体の酸化ストレス状態を総合的に評価するには同時に抗酸化力も評価することが望ましい⁴⁾。抗酸化力を維持するためには，SOD，カタラーゼ，グルタチオン，グルタチオンペルオキシダーゼ

表1 被験者背景

	TJ-3022 群 (n=17)	TJ-3023 群 (n=17)	P 値
年齢(歳、中央値)	38 (23-54)	40 (23-56)	N.S
性	男性 11 例、女性 6 例	男性 12 例、女性 5 例	N.S
投与前 d-ROMs (U.CAAR.)	305 (144-475)	303 (199-385)	N.S
投与前 OXY (μ mol/ml HClO)	331 (200-390)	351 (245-375)	N.S

N.S: not significant

表2 TJ-3022群の経時的変化

	服用直前	90 分後	72 時間後	P 値
D-ROMs (U.CAAR.)	305 (144-475)	302 (141-433)	302 (141-493)	N.S
OXY (μ mol/ml HClO)	331 (200-390)	327 (269-417)	329 (285-375)	N.S

N.S: not significant

表3 TJ-3023群の経時的変化

	服用直前	90 分後	72 時間後	P 値
D-ROMs (U.CAAR.)	303 (199-385)	291 (207-389)	292 (214-394)	N.S
OXY (μ mol/ml HClO)	351 (245-375)	343 (249-379)	334 (267-415)	N.S

N.S: not significant

などの内因性抗酸化物質は年齢とともに減少するため、植物に含まれるファイトケミカルなどの外因性抗酸化物質を取り入れる必要がある。小柴胡湯、釣藤散など漢方方剤は植物由来の生薬が含有されているために抗酸化力を有しているといわれている^{5)~7)}。

in vitro の研究において、ブシ末は用量依存的に O_2^- を除去できることが報告されている⁸⁾。我々はこれまでにブシ末 3 g/日の単独服用で血流増加がみられることを報告しており⁹⁾、その二次的効果により酸化にも影響を及ぼし、治療の一助を担っている可能性がある。特に TJ-3023 は TJ-3022 よりもアコニチン類の含有量が多いためさらなる効果が期待できる。しかし、これまでに臨床的に附子単独の抗酸化力を検討した報告はない。通常ブシ末服用量は安全性を考慮して 1.5 g~3 g と少なく、直接作用として抗酸化力を発揮できているのか疑問がある。そこで、今回、健康成人に対して 2 種類のブシ末製剤を単独で服用した場合の酸化ストレス度と抗酸化力を測定し、ヒトにおいて附子の抗酸化作用が認められるのかを検討した。

対象と方法

健康成人 34 例を対象とした。被験者全員には事前に安全性・中止について説明し承諾を得た。症例をランダムに 17 例ずつに分けて、2 種類のブシ末を服

用した(ツムラ, TJ-3022, TJ-3023)。TJ-3022 群は男性 11 例、女性 6 例、TJ-3023 群は男性 12 例、女性 5 例で両群の性別に有意差はみられなかった ($P > 0.9999$)。また、両群の年齢には有意差を認めなかった ($p = 0.9332$)。両群の服用直前の酸化ストレス度と抗酸化力の値にも有意差は認められなかった ($p = 0.9314$, $p = 0.6174$) (表 1)。

ブシ末を 3 g/日分 3 で 3 日間服用した。ブシ末の服用は市販されているミネラルウォーターを用いた。ストレスに関与すると思われる飲食物、睡眠、運動については被験者の自由として制限を加えなかった。服用時間は食間とし、服用直前、服用 90 分後、服用 72 時間後の 3 回、採血を行った。

血液の酸化ストレス度と抗酸化力の測定はフリーラジカル評価装置 (F.R.E.E.: Free Radical Elective Evaluator, 株式会社ウイスマー) を使用した。酸化度測定は Diacron-reactive oxygen metabolites (以下, d-ROMs テスト) によった¹⁰⁾。本テストは生体における活性酸素の代謝産物であるヒドロペルオキシド濃度をクロモゲンによる呈色反応で計測する。血中ヒドロペルオキシド量(過酸化された脂質, 蛋白質, アミノ酸, 核酸など) = 生体内活性酸素・フリーラジカル量であるため、生体内の酸化ストレス度を総合的に評価することができる。1 Carratelli Units (U.

CAAR.) が過酸化水素0.08 mg/dl に相当する。健康人の標準値は200–300 U.CAAR.である。抗酸化力の測定はOXY吸着テストによった¹¹⁾。次亜塩素酸(HClO)は生体内の白血球が異物を攻撃する際に産生する最も強力な活性酸素の一種であり、総抗酸化バリア測定(以下、OXY吸着テスト)はHClOを消去する能力を測定する。これは、有機液体の抗酸化力を総合的に分析するテストと言える。健康人の標準値は350 $\mu\text{mol/ml}$ HClO 以上である。

値は中央値(最小値–最大値)で表し、集計表の検定はFisher's exact probability testsを用い、2群の比較はMann-Whitney's U test, 経時変化はFriedman検定を用いた。 $p < 0.05$ をもって、有意差ありとした。

結果

1. TJ-3022群の経時変化

酸化ストレス度に関して、服用直前は305 (144–475) U.CAAR., 90分後は302 (141–433) U.CAAR.で、72時間後は302 (141–493) U.CAAR.で、有意な変化はみられなかった($p = 0.4437$)。

抗酸化力に関して、服用直前は331 (200–390) $\mu\text{mol/ml}$ HClO, 90分後は327 (269–417) $\mu\text{mol/ml}$ HClOで、72時間後は329 (285–375) $\mu\text{mol/ml}$ HClOで、有意な変化はみられなかった($p = 0.1926$) (表2)。

2. TJ-3023群の経時変化

酸化ストレス度に関して、服用直前は303 (199–385) U.CAAR., 90分後は291 (207–389) U.CAAR., 72時間後は292 (214–394) U.CAAR.で、有意な変化はみられなかった($p = 0.2985$)。

抗酸化力に関して、服用直前は351 (245–375) $\mu\text{mol/ml}$ HClO, 90分後は343 (249–379) $\mu\text{mol/ml}$ HClOで、72時間後は334 (267–415) $\mu\text{mol/ml}$ HClOで、有意な変化はみられなかった($p = 0.9999$) (表3)。

考察

TJ-3023はTJ-3022よりも修治時間を短縮させて製造されているため、メサコニチン、ヒパコニチン、アコニチンの含量が高まっている。我々もヒトにおけるTJ-3022とTJ-3023の比較において、メサコニチン、アコニチン、ジェサコニチンの濃度がTJ-3023群の方が有意に高値を示すことを報告した³⁾。また、附子には鎮痛効果だけでなく、温熱作用、

血流量増加作用があることを我々は報告した⁹⁾。Yamadaら¹²⁾は冷え症患者の血中一酸化窒素代謝産物(NOx)を測定し、附子を含有する方剤を処方された症例の方が附子を含有しない方剤を処方された症例よりもNOx値が高くなることを報告し、附子にはNO産生による血管拡張作用があることを示唆している。このようにブシ末製剤は微小循環不全の治療にも応用できる可能性がある。一方、NOそのものがフリーラジカルであるために他のフリーラジカル種との相互反応から新たな活性酸素種を生じることにも明らかになっている¹³⁾。特に虚血再還流時には誘導型一酸化窒素合成酵素の発現が亢進し、血中NOが増加するため、NOは両刃の剣といえる。*in vitro*の実験において小柴胡湯がNO産生を抑制することによってエンドトキシンで誘発されるショックを回避できることが示唆されている¹⁴⁾。

そこで、今回、2種類のブシ末を服用して酸化ストレス度と抗酸化力を経時的に測定したが、両群とも有意な変化はみられなかった。*in vitro*の研究ではブシ末は用量依存的にO₂やヒドロキシラジカルを除去できることが報告されている⁸⁾。今回の検討ではブシ末投与量が3 g/日3日間と少量かつ短期間であったため有意な変化に至らなかっただけなのか、附子にはジペルテン型アルカロイド(アコニチン系、アチシン系)、ハイゲナミン、コリネインなど様々な成分が含有されているため抗酸化作用があっても相殺するような作用も有しているのか、現時点では明らかではない。三宅らは健康人に抗酸化素材(酵母グルカン、プロポリス、ヘスペリジン、ルチン、トレハロース、マビット)を30日間服用させ、酸化ストレス度(d-ROMsテスト)、抗酸化力(BAPテスト:鉄の還元力が指標)を測定し、服用前後で有意な変化はみられなかったことを報告している¹⁵⁾。健康人を対象とした場合、高度の酸化ストレス状態とは異なった反応を示す可能性もある。ただ、3 g/日のブシ末服用では逆に酸化ストレス度が高まる可能性も否定できると思われた。附子には鎮痛作用、温熱作用、強心作用、新陳代謝賦活作用などがあるが、それらの作用には血流増加や抗酸化の関与が推定されてきた。もちろん、d-ROMsテストは代謝産物であるヒドロペルオキシド全般を測定しているために活性酸素の種類を特定することや、半減期が数秒であるペルオキシラジカルやアルコキシルラジカ

ルまで測定することはできない。しかし、今回の検討から抗酸化の影響は否定的で血流増加による影響の方が大きいと考えられた。

通常、ブシ末は1.5 g～3 g/日で使用されることが多いため、今回は3 g/日を選択したが、実際の臨床ではさらに増量することもある。現在、臨床使用される抗酸化物質としては、エダラボン、ラザロイド、N-アセチルシステイン、DMSO（ジメチルスルホキシド）などがある¹⁶⁾。こういった薬剤との比較試験も有意義であろう。今後は、東洋医学的に附子の適応である寒証の症例に対象を限定して検討を行う予定である。

結語

附子には鎮痛作用、温熱作用、強心作用、新陳代謝賦活作用などあり、ヒトにおいてもブシ末単独服用でそれらの作用に抗酸化力が関与するかを検討した。2種類のブシ末を用いて健常人に対して酸化ストレス度、抗酸化力を経時的に測定したが酸化ストレス度、抗酸化力ともに有意な変動は認められなかった。特に附子による抗酸化作用が影響していると考えられる新陳代謝賦活などにはブシ末3 g/日の服用では影響を及ぼさないことが示唆された。

謝辞 本研究の一部は平成18年度財団法人日本漢方医学研究所研究助成金「臓器障害抑制に対する修治ブシ末の臨床的意義」によった。

文献

- 1) 中永士師明：整形外科領域の疼痛疾患に対するブシ末の有用性について日東医誌60, 81-85, 2009
- 2) 鈴木康之, 譲原光利, 加瀬義夫, 丸本正彦, 竹田秀一：ブシ末（調剤用）「ツムラ」（TJ-3023）の鎮痛および抗アロディニア作用。薬理と治療, 35, 885-890, 2007
- 3) Nakae H, Fujita Y, Igarashi T, Tajimi K, Endo S : Serum aconitine concentrations after taking powdered processed Aconiti tuber. Biomedical Res, 29, 225-231, 2008
- 4) Huerta JM, González S, Fernández S, Patterson AM, Lasheras C : Lipid peroxidation, antioxidant status and survival in institutionalised elderly : a five-year longitudinal study. Free Radic Res, 40, 571-578, 2006
- 5) Sakaguchi S, Tsutsumi E, Yokota K : Preventive effects of a traditional Chinese medicine (sho-saiko-to) against oxygen toxicity and membrane damage during endotoxemia. Biol Pharm Bull, 16, 782-786, 1993
- 6) Mahakunakorn P, Tohda M, Murakami Y, Matsumoto K, Watanabe H : Antioxidant and Free Radical-Scavenging Activity of Choto-san and Its Related Constituents. Biol Pharm Bull, 27, 38-46, 2004
- 7) 永田勝太郎, 長谷川拓也, 喜山克彦, 広門靖正：漢方方剤の酸化ストレス防御系への影響（第1報）漢方方剤の抗酸化力。日東医誌, 59, 242, 2008
- 8) Nemoto Y, Satoh K, Toriizuka K, Hirai Y, Tobe T, Sakagami H, Nakashima H, Ida Y. : Cytotoxic and radical scavenging activity of blended herbal extracts. In Vivo, 16 : 327-32, 2002
- 9) 中永士師明：ブシ末単独服用による手指の皮膚温および組織血流量に及ぼす影響について。日東医誌, 59, 809-812, 2008
- 10) Cornelli U, Terranova R, Luca S, Cornelli M, Alberti A : Bioavailability and antioxidant activity of some food supplements in men and women using the D-Roms test as a marker of oxidative stress. J Nutr, 131, 3208-3211, 2001
- 11) Vassalle C, Masini S, Carpeggiani C, L'Abbate A, Boni C, Zucchelli GC : In vivo total antioxidant capacity : comparison of two different analytical methods. Clin Chem Lab Med, 42, 84-89, 2004
- 12) Yamada K, Suzuki E, Nakaki T, Watanabe S, Kanba S : Aconiti tuber increases plasma nitrite and nitrate levels in humans. J Ethnopharmacol, 96, 165-169, 2005
- 13) Katusic ZS : Vascular endothelial dysfunction : does tetrahydrobiopterin play a role? Am J Physiol Heart Circ Physiol, 281, H981-986, 2001
- 14) Sakaguchi S, Furusawa S, Yokota K, Sasaki K, Takayanagi M, Takayanagi Y : Effects of antitumor activity and protection of shock symptoms by a traditional Chinese medicine (sho-saiko-to) in recombinant human tumor necrosis factor administered mice. Biol Pharm Bull, 19, 1474-1478, 1996
- 15) 三宅智恵子, 春日井達造, 通木俊逸, 植田美津江：抗酸化素材の効果判定 ボランティアを対象とした臨床データの比較検討。日未病システム会誌, 11, 108-110, 2005
- 16) Dohi K, Satoh K, Nakamachi T, Yofu S, Hiratsuka K, Nakamura S, Ohtaki H, Yoshikawa T, Shioda S, Aruga T : Does edaravone (MCI-186) act as an antioxidant and a neuroprotector in experimental traumatic brain injury? Antioxid Redox Signal, 9, 281-287, 2007