原著

亜鉛異常における小腸粘膜病変に
対する漢方薬の作用唐 方¹⁾ 野田 裕司 吉村 昌雄²⁾
久保 道德³⁾ 阿部 博子¹⁾The Effects of a Chinese Herbal Medicine on Gastrointestinal
Disorder with Zinc AbnormalityFang TANG¹⁾ Hiroshi NODA Masao YOSHIMURA²⁾
Michinori KUBO³⁾ and Hiroko AEB¹⁾

1) M. D., The Research Institute of Oriental Medicine, Kinki University, 377-2, Onohigashi, Osaka-Sayama-shi, Osaka 589, Japan

2) M. D., Department of Legal Medicine, School of Medicine, Kinki University

3) Ph. D., Faculty of Pharmaceutical Science, Kinki University

Abstract Compared with normal mice, the concentration of serum zinc in zinc-deficient mice was significantly increased after oral administration of 1ml of 1000ppm ZnSO₄ solution, while that of zinc-deficient mice treated with Kampo (Pogostemi Folium et Rhizoma, Perilla Herba, Saussureae Radix, Aurantii Nobilis Pericarpium, Anemarrhena Rhizoma, etc.) was not increased. The intestinal mucosa of zinc-deficient mice was also remarkably injured with administration of ZnSO₄, but the Kampo formula inhibited its injury.

Key words: Chinese herbal medicine, combined therapy, Kampo formula, zinc deficiency

Nihon Toyo Igaku Zasshi (Japanese Journal of Oriental Medicine), **45**, 833-839, 1995
(accepted Jun 3, 1994)

緒 言

亜鉛欠乏症の治療には一般に硫酸亜鉛(ZnSO₄)の投与が行われるが、硫酸亜鉛のみの投与では血中亜鉛濃度を一定に維持することが困難であり、急性亜鉛中毒の発症など多くの問題が残されている。一方、中国では亜鉛欠乏症の治療に漢方薬

(藿香、紫蘇、木香、陳皮、知母、鶏内金)と硫酸亜鉛を併用すると硫酸亜鉛のみによる治療より安全で良い効果の得られる事を報告^{1)~3)}としている。我々は第Ⅰ報⁴⁾、第Ⅱ報⁵⁾でこの漢方薬(藿香、紫蘇、木香、陳皮、知母、鶏内金)が亜鉛欠乏マウスおよび亜鉛過剰投与マウスいずれにおいても、小腸粘膜の障害を明らかに抑制する事を報

1) 医, 近畿大学東洋医学研究所・第一研究部門, 大阪, 〒589 大阪狭山市大野東377-2

2) 医, 近畿大学医学部法医学教室

3) 薬, 近畿大学薬学部

[1994年6月3日受理]

告した。本研究では亜鉛欠乏症の治療に漢方薬と硫酸亜鉛を併用した場合の利点や漢方薬の作用機序を明らかにすることを目的として、正常対照マウス、亜鉛欠乏マウスおよび漢方薬投与亜鉛欠乏マウスに硫酸亜鉛を投与し、血清亜鉛濃度の変動や小腸粘膜の病理学的変化を比較観察した。

材料および方法

1) 実験動物および亜鉛欠乏マウスの作成法

実験動物としてはICR系、6週齢、雌性マウスを用いた。第Ⅰ報⁴⁾、Ⅱ報⁵⁾と同様に亜鉛欠乏食(日本クレア社製通常飼料(CE-2)から $5\text{ZnO} \cdot 2\text{CO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ のみ除去したもの)を投与したマウスを亜鉛欠乏対照群および漢方薬投与群(各群10~12匹)の2群に分け、正常対照群には通常食(日本クレア社製通常飼料(CE-2))を投与した。実験開始から4週目に各群マウスに1000ppm ZnSO_4 水溶液を1ml 強制経口投与し、1時間目に採血および小腸の摘出を行った。

2) 漢方薬煎液作成法

漢方処方第Ⅰ報⁴⁾と同様に中国、四川省産の藿香、紫蘇、木香、陳皮、知母、鶏内金(各生薬同量8数)に10倍の水を加えて1時間浸した後

表1 血清亜鉛濃度の変化

	N	血清亜鉛濃度 ($\mu\text{g}/\text{dl}$)
正常対照群	10	100.00 $\pm$ 14.76
正常対照群 + 1000ppm ZnSO_4	12	237.20 $\pm$ 27.45
亜鉛欠乏群 + 1000ppm ZnSO_4	10	1010.67 $\pm$ 78.26 ^{aa}
亜鉛欠乏+ 漢方薬投与群 +1000ppm ZnSO_4	10	518.80 $\pm$ 61.14 ^{ab}

正常対照+1000ppm ZnSO_4 群に対する有意差

: ^{aa} $p < 0.01$; ^a $p < 0.05$

亜鉛欠乏+1000ppm ZnSO_4 群に対する有意差

: ^b $p < 0.05$

に、煎液が添加した水の1/10量になるまで煎じた。この煎液をマウス1匹当たり1日1ml(1匹当たり各生薬0.4g投与に相当、ヒト1日量の約15倍に相当)経口投与した。

3) 血清亜鉛濃度測定方法

血清亜鉛濃度は採血した血液から血清を分離した後、0.5N 硝酸溶液で希釈して、偏光ゼーマン原子吸収分光光度計(Model 180-80, Hitachi)で測定した。

図1

表2 絨毛形態分類

	正 常			異 常		合 計	
	I	II	III	IV	V	絨毛総数	正常絨毛数
正常対照 + 1000ppmZnSO ₄ 群	33 (24.44%)	32 (23.70%)	31 (22.96%)	36 (26.67%)	3 (2.20%)	135 (100%)	96 (71.13%)
亜鉛欠乏+ 1000ppmZnSO ₄ 群	5 (3.10%)	15 (9.30%)	31 (19.25%)	102 (63.35%)	8 (4.97%)	161 (100%)	51 ^{aa} (31.65%)
亜鉛欠乏同時に 漢方薬投与 + 1000ppmZnSO ₄ 群	41 (29.08%)	35 (24.82%)	30 (21.28%)	31 (21.99%)	4 (2.84%)	141 (100%)	106 ^{bb} (75.18%)

正常対照+1000ppmZnSO₄群に対する有意差：^{aa}p<0.001亜鉛欠乏+1000ppmZnSO₄群に対する有意差：^{bb}p<0.001

4) 光学顕微鏡用試料の作成

屠殺したマウスより空腸粘膜(十二指腸から約2mm)を摘出し、10%ホルマリン溶液で固定後、定法に従って脱水、包埋して、垂直に薄切した。切片はヘマトキシリン・エオジン染色して観察、撮影した。

5) 絨毛形態の分類法

絨毛形態は第Ⅰ報、第Ⅱ報と同様に、Lee and Tonar⁹⁾の分類に準拠して、gradeⅠ～gradeⅤまでの5段階に分類し、gradeⅠ～Ⅲは正常とし、gradeⅣ～Ⅴは異常と判定した。各群マウスの1検体からそれぞれ2枚の光顕写真(100倍)を撮影し、写真2枚の中にある絨毛を全て上述の5段階に分類してカウントした。

6) 透過型電子顕微鏡用試料の作成法

摘出した小腸を3%グルタルアルデヒド溶液および1%オスミウム溶液で固定し、定法に従って脱水、エボン包埋した。超薄切片はウラニルアセテート、クエン酸で染色して観察した。

7) 走査型電子顕微鏡用試料の作成法

定法に従って固定、脱水して、VED-20凍結乾燥装置で凍結乾燥し、着金した(E-1030形日立イオンスプッター)、その試料をJSM-840走査電子顕微鏡で観察した。

8) 有意差検定法

血清亜鉛濃度の結果(表1)は一元配置分散分析法を用いて、「正常対照+硫酸亜鉛」「亜鉛欠乏+硫酸亜鉛」「亜鉛欠乏+漢方薬+硫酸亜鉛」の

3群間に有意差(P<0.001)のあることを確認し、さらにSchefféの多重比較によって各群間の有意差を検定した。絨毛形態の分類の結果(表2)はKruskal-WallisのH検定によってGradeⅠ～Ⅴの分布に各群間で有意差(P<0.001)のあることを確認し、次いでgradeⅠ～Ⅲを正常、gradeⅣ～Ⅴを異常として2群に分類して、Scheffeの多重比較によって正常、異常絨毛の比率の有意差検定を行った。

結 果

1) 血清亜鉛濃度の変化

亜鉛欠乏食を投与したマウスに1000ppmの硫酸亜鉛溶液、1mlを投与すると、投与1時間後の血清亜鉛濃度は正常対照群に硫酸亜鉛を投与したものに比べて有意な(P<0.01)上昇を示した。ところが、亜鉛欠乏食に漢方薬を投与した群では亜鉛欠乏対照群に比べて血清亜鉛濃度の上昇が有意(P<0.01)に抑制された(表1)。

2) 光顕所見

正常対照マウスに硫酸亜鉛を投与すると、空腸絨毛の長さは不均一となり、その形態は指状あるいは葉状であった。またリンパ腔は軽度に拡張し、絨毛の幅も広がっているのが観察された。しかし絨毛外層の皮質縁は鮮明で、先端部の上皮細胞の脱落は極めて少数であった。亜鉛欠乏対照マウスでは、第Ⅰ報に示したように、絨毛の配列は不整で、形は尾根状あるいは平坦融合状を示す

図 2

図3

が、この亜鉛欠乏マウスに硫酸亜鉛を投与すると絨毛の配列は亜鉛欠乏対照マウスより更に不整となり、絨毛先端から絨毛の中央まで上皮細胞の著明な脱落が観察された。また先端の拡張したリンパ腔は破綻して露呈しており、間質への細胞浸潤は対照の亜鉛欠乏マウスより更に増加することが

認められた。これに対して漢方薬投与群においては、硫酸亜鉛投与後にも絨毛の障害は軽度で、ほぼ正常対照群に硫酸亜鉛を投与した場合と同様の所見を示した(図1)。

3) 小腸絨毛形態の分類

正常対照マウス, 亜鉛欠乏マウス, 亜鉛欠乏+

漢方薬投与マウスにそれぞれ硫酸亜鉛を投与した場合の小腸絨毛形態の5段階分類の結果には、有意の差 (Kruskal-Wallis のH検定で $P < 0.001$) が認められ、亜鉛欠乏対照群と漢方薬を投与した亜鉛欠乏群との間にも明らかな差 ($P < 0.001$) がみられた。即ち、正常対照マウスに硫酸亜鉛を投与した場合の小腸の絨毛形態では、grade I～Ⅲの正常形態を示すものが71.1%であったのに対して、亜鉛欠乏対照群マウスに硫酸亜鉛を投与したものでは grade I～Ⅲは31.65%であり、正常対照群に比べて有意 ($P < 0.001$) の減少を示し、grade IV～Vの異常形態を示すものは68.32%と著明な増加が認められた。これに対して漢方薬を投与した亜鉛欠乏マウスに硫酸亜鉛を投与したものでは、grade I～Ⅲが75.18%で、亜鉛欠乏対照マウスに比較して明らか ($P < 0.001$) が増加を示し、grade IV～Vの病的変化を示す割合は著明に抑制された (表2)。

4) 走査電顕所見

低倍率走査電顕像では、正常対照群マウスに1000ppmの硫酸亜鉛、1mlを投与しても空腸絨毛の先端部はほぼ正常であったが、高倍率所見では空腸粘膜表面に乳びのうつ滞を認めた。しかし微絨毛の分布には著明な変化は見られなかった。亜鉛欠乏マウスに硫酸亜鉛を投与したものでは小腸絨毛先端部に潰瘍および粘膜表面におけるびらんなど出血性病変を多数認め、特に微絨毛の分布は不均一で花簇状になっているものが多数観察された。これに対して漢方薬を投与した亜鉛欠乏マウスに硫酸亜鉛を投与したものでは微絨毛は正常対照群に近い均一分布を呈し、粘膜表面も平坦であった (図2)。

5) 透過電顕所見

硫酸亜鉛を投与した正常対照マウスでは、細胞内小器官や微絨毛に著明な病的変化は認めなかった。ところが亜鉛欠乏マウスに硫酸亜鉛を投与したものでは小腸上皮細胞の小胞体及びゴルジ装置は明らかに拡張し、ミトコントリアは小さく丸くなり、クリスタの乱れが見られた。特に微絨毛の配列は不整で脱落している所見も見られた。ところが漢方薬を投与した亜鉛欠乏マウスでは細胞内

小器官の病理的变化は殆ど見られなかった。亜鉛欠乏対照マウスに比べて、微絨毛の配列には明らかな差が認められた (図3)。

考 察

正常マウスおよび亜鉛欠乏マウスに漢方薬を投与したものに1000ppmの硫酸亜鉛溶液、1mlを投与しても、死亡するマウスは全く見られなかったが、亜鉛欠乏マウスに同量の硫酸亜鉛を投与すると、投与1時間目の血清亜鉛濃度は著明に増加し、投与2時間目には約90%が死亡した。この亜鉛欠乏マウスの硫酸亜鉛投与1時間後の小腸を肉眼的に観察したところ、小腸は充血し、輪状襞の拡張が見られると共に腸管内に水の貯留が認められた。亜鉛欠乏マウスの小腸の光顕所見では、第1報に述べたように、絨毛先端部の上皮の脱落は認められたが、硫酸亜鉛投与後にはこの変化が更に増強され、絨毛の形態は全く確認されない程に破壊されている。これらの結果は亜鉛欠乏によって小腸粘膜に障害のあるマウスに硫酸亜鉛を投与すると、正常なマウスに比べて血中亜鉛濃度が著しく増加し、極めて危険であることを示している。ところが漢方薬を投与したマウスでは血中亜鉛濃度の上昇や小腸粘膜病変は明らかに抑制されている。従って亜鉛欠乏マウスに硫酸亜鉛のみを投与するより、漢方薬を予め投与して小腸粘膜の回復を図りつつ硫酸亜鉛を投与することが血中亜鉛濃度の急激な上昇を防ぎ、硫酸亜鉛による小腸粘膜の障害を防ぐためにも望ましいことは明らかである。

現在、亜鉛欠乏の原因として食事性亜鉛摂取の低下、小腸からの吸収低下、亜鉛結合蛋白の低下など様々な因子の関与^{7)~12)} が考えられているが、治療としては一般に硫酸亜鉛の投与が行われているに過ぎない。しかし本研究でも明らかなように、亜鉛欠乏によって小腸粘膜は著明に障害されており、硫酸亜鉛の大量投与はさらに小腸粘膜を障害し、血中亜鉛濃度の異常な上昇をもたらしている。従って硫酸亜鉛による治療は小腸粘膜の障害の程度によっては極めて危険性を伴う治療法であると考えられる。中国では小児の亜鉛欠乏症が

多くみられ、その治療に硫酸亜鉛のみ投与するより漢方薬を併用する方が、血中濃度の維持が容易であり、また安全であることを臨床的に確認している。本研究結果はこの臨床経験に基づく漢方薬の有効性を明らかに裏づけるものである。現在のところまだ本漢方薬の作用機序の詳細は明らかではないが、第Ⅰ報、第Ⅱ報の結果をも考慮すると、本漢方薬が血中亜鉛の代謝などに直接関与するのではなく、小腸粘膜に対する保護作用を介して亜鉛欠乏症の治療に役立つ可能性が最も大きいと思われる。

文 献

1) 顧 可欽：中医雑誌，30巻4号，p.32，1989

2) 唐 方：ACTA NUTRIMENTA SINICA, 14巻4号，p.355，1992

3) 馬 建英，他：ACTA NUTRIMENTA SINICA, 15巻1号，p.47，1993

4) 唐 方，他：日本東洋医学会誌，印刷中

5) 唐 方，他：日本東洋医学会誌，印刷中

6) Lee FD, Tonar PG: Biophy pathology of the small intestine, 1st ed., Chapman and Hall, London, 7-35, 1980

7) 木村修一，他：微量元素と生体，秀潤社，東京，p.75～108，1980

8) 木村美恵子：最新医学，45巻4号，p.726，1990

9) 木原 彊：胃と腸，11巻2号，p.188，1976

10) 脇山耕治：日本消化器病学会雑誌，84巻1号，p.33，1987

11) 荒川泰行，他：最新医学，45巻4号，p.673，1990

12) 森嶋隆文：最新医学，45巻4号，p.692，1990

要旨 亜鉛欠乏マウスに大量の硫酸亜鉛を投与すると、投与1時間後の血清亜鉛濃度は正常対照マウスに比べて著しく増加し、小腸粘膜病変も増悪するが、漢方薬（藿香、紫蘇、木香、陳皮、知母、鶏内金）投与した亜鉛欠乏マウスでは血清亜鉛濃度の上昇が抑制されると共に小腸粘膜の障害も軽減されることが見出された。