薬用人参の薬理学的研究 (第 1 報) 実験的 Disseminated Intravascular Coagulation
に対する紅参の作用 その 1

松田秀秋, 久保道德*

近畿大学薬学部

Pharmacological Study on *Panax ginseng* C.A. MEYER. I. Effects of Red Ginseng
on the Experimental Disseminated Intravascular Coagulation (I)

HIDEAKI MATSUDA and MICHINORI KUBO*

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kinki University, 3-4-1,
Kowakae, Higashiosaka, Osaka, 577, Japan

(Received June 27, 1983)

The antithrombic activities of 70% methanol extract (I) obtained from Korean red ginseng (root of *Panax ginseng* C. A. MEYER) were evaluated in the models of experimental disseminated intravascular coagulation (DIC) induced by endotoxin or thrombin in rats, and in the *in vitro* models of blood platelet aggregation, agglutination of fibrinogen and activation of fibrinolytic system.

In the coagulative system, I prevented the exchanges of values of clinical examination (blood platelet, fibrinogen and prothrombin time) at a dose of 500 mg/kg in rats on DIC induced by endotoxin or thrombin. I also inhibited the formation of fibrin thrombi in the renal glomeruli on the thrombin-induced DIC in rats.

In the fibrinolytic system, I was found to show fibrinolytic activity in rats as determined by the euglobulin lysis time (ELT) assay.

In the *in vitro* experiments, incubation of I in the plasminogen-containing fibrin plate promoted activation of urokinase action.

Keywords—*Panax ginseng*; disseminated intravascular coagulation; endotoxin; blood platelet; fibrinogen; thrombin; euglobulin lysis time; plasminogen; urokinase

薬用人参は『神農本草経¹⁾』に「主補五藏安精神定魂魄止驚悸除邪氣明目開心益智」とあり、また『名医別録²⁾』に「療腸胃中冷心腹鼓痛胃脇逆滿霍亂吐逆調中止消渴通血脈破堅積令人不忘」と記載されているごとく、古くから新陳代謝促進、生理活性賦活、精神安定化、消化器系の作用亢進、血液循環改善作用などを期待して用いられ、不老長寿の靈薬として広く賞用されてきた漢薬である。

すでに、人参の薬理、生化学的研究に関しては糖、蛋白質、脂質代謝への作用、内分泌への作用、副腎皮質ホルモン分泌への作用、抗潰瘍作用、免疫賦活作用、抗アレルギー作用等が報告され、臨床医学的にも高脂血症改善、糖尿病改善等が報告³⁾されているが、血液循環障害による病変に対する作用についてはほとんど報告がなく、これは人参のもつ有効作用の大きな問題と考えられる。そこで、今回、梗塞壊死の直接的な要因の1つとなる血栓症に対する人参の予防作用について、実験的 DIC モデルを用いて検討した。

DIC は血栓の形成により血管腔が狭窄、閉塞して虚血性病変や梗塞が生じ、各種臓器の機能障害を招来する疾病で、この発生には血管および血管内での異常によりおこる血小板の粘着や凝集が律速段階となる血小板血栓(白色血栓)の形成亢進とフィブリン沈着、赤色血栓形成および線溶系の異常とが主因となり、さらに肝障害や網内系の障害などが関与して、臨床的に重篤な症状を惹起するといわれている。⁴⁾このような疾患の予防と治療には血栓形成抑制と血栓除去作用とのバランスの恒常性により、生命維持できるものが最良の薬物といえ、人参にそれが期待できそうである。

実験的 DIC を惹起させる方法は種々報告⁴⁾されているが、本報では血栓誘発剤にエンドトキシンを用いてラットに実験的 DIC を誘発させ、人参の有効性を血液学的、病理解剖学的に検討した。さらに、人参の実験的 DIC

に対する作用機序を明らかにするために, *in vivo* でトロンビンによる実験的 DIC, ユーグロブリン溶解時間法による線溶活性化作用を検討した. *In vitro* ではエンドトキシン, コラーゲン, ADP, アラキドン酸による血小板凝集抑制作用, トロンビンによるフィブリンの形成抑制作用および線溶系活性化作用を検討した.

なお, 被検体の人参は *Panax ginseng* C. A. MEYER, オタネニンジンの 6 年栽培品を蒸して乾燥した韓国産製品紅参を用い, 有効成分の抽出効率を増すために, 今回は 70% メタノールエキスを主に実験材料とした. また, 有効成分の検索を目的に 70% メタノールエキスの各種分画部のエンドトキシンによる実験的 DIC に対する作用も検討した.

実験材料および方法

実験材料 韓国産紅参を Chart 1 の方法で抽出した 70% メタノールエキス (以下 I と略す), 酢酸エチル可溶部 (II), *n*-ブタノール可溶部 (III), 水可溶部 (IV) を実験材料に用いた.

Chart 1

実験動物 Wistar 系雄性ラット (7 週令) を用いた. 飼育環境は $23 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ の恒温恒湿の部屋で, 実験に供するまでに一週間予備飼育を施した.

エンドトキシンによる実験的 DIC におよぼす作用 Schoendorf ら^{4a)} の方法に準じた. Wistar 系ラットに I, II, III, IV 200, 500 mg/kg 経口投与 1 時間後にエンドトキシン 0.5 mg/kg を尾静脈に注射し, I 投与群は 2, 4, 24 時間後に, II, III, IV 投与群は 4 時間後にネンブタール麻酔下で採血し, 血小板数, フィブリノーゲン量, プロトロンビン時間 (PT), 血中フィブリン分解産物量 (FDP) を測定した. また, I 投与群の 24 時間後採血群は採血後ただちに肝臓を摘出し, 常法にしたがってパラフィン包埋, 薄切し, ヘマトキシリン-エオジン染色を施した後, 鏡検し肝切片 1 cm² 中に形成された出血性壊死巣の数を測定した.

トロンビンによる実験的 DIC におよぼす作用 Margaretten^{4b)} の方法に準じた. Wistar 系ラットに I 200, 500 mg/kg 経口投与 1 時間後にラットをネンブタール麻酔下で腹位に固定し, 脛静脈にカニューレを挿入し, 持続注入器にてトロンビン (4 U/min) を 30 分間注入した. 直後に腹大静脈から採血し, 血小板数, フィブリノーゲン量, PT, FDP を測定した. また, 採血後ただちに両側の腎臓を摘出し, 常法にしたがって薄切し, フィブリン陽性のリンタングステン酸-ヘマトキシリン染色を施した後, 100 個の糸球体の中でフィブリン沈着の認められた糸球体の数を 100 分率で示した.

ユーグロブリン溶解時間 (ELT) におよぼす作用 Wistar 系雄性ラットに I 200, 500 mg/kg の経口投与 1 時間後, あるいはデキストラン硫酸 1, 10 mg/kg の尾静脈投与 30 分後にネンブタール麻酔下で腹大静脈から採血し, 氷冷 3.8% クエン酸ナトリウム液 1/10 量を加えて, 4°C で $4000 \times g$, 10 分間遠心分離して得た血漿を用いて, Kaulla ら⁵⁾ の方法に準じて ELT を測定した. 血漿 0.7 ml に氷冷蒸留水 9.8 ml を加えて, 液面に CO₂ を吹きつけながら 4°C で 5 分間 incubate し, 生じた沈渣を $4000 \times g$, 10 分間遠心分離した. 沈渣を 1/15 N リン酸緩衝液 0.7 ml に溶解した後, トロンビン溶液 (125 U/ml) 0.04 ml を加えて凝固させ, 37°C で incubate して

凝固塊が完全に溶解するまでの時間を ELT として測定した。

血液検査測定法 全自動血球計数器 (Coulter Counter S-Plus, Coulter 社) にて血小板数, トロンビン時間法 (Clotek, Plyland 社) によりフィブリノーゲン量, 光電比色方式 (COAG-A-MATE Dual channel, General diagnostic: Warner-Lambert) により PT, ラテックス凝集反応法 (FDPL Test U, 帝国臓器) にて FDP を測定した。

血小板凝集抑制作用 a) ラット血小板の調整——ネンブタール麻酔下で Wistar 系ラットの心臓から採血したラット血液に, 50 U/ml のヘパリン生理食塩液を 1/10 量加え, $300\times g$, 10 分間遠心分離し, 上層を多血小板血漿 (PRP) とした。さらに下層を $2000\times g$, 30 分間遠心分離し, 上層を乏血小板血漿 (PPP) とした。

b) 血小板凝集抑制試験——Born ら⁶⁾ の方法に準じ, アグリゴメーター (理化電機社) を用いて測定した。付属のキューベットに PRP を 0.2 ml 分取し, 37°C にて 1 分間保温攪拌した後, 被検体あるいは対照溶媒を 5 μl 添加した。さらに, 1 分後, 凝集刺激剤としてエンドトキシン, コラーゲン, ADP, アラキドン酸を添加し, 血小板凝集によって生じる PRP の吸光度の変化を経時的に記録した。血小板の凝集能およびこれに対する被検体の抑制作用の表現法としては, PRP 自身の吸光度を凝集率 0%, PPP のそれをもって凝集率 100% とし, この間で描かれる凝集曲線の最大透過度を示す点を最大凝集時とした。この際の対照溶媒添加時の最大凝集に対する被検体添加時の最大凝集の比から, 被検体の抑制率を求めた。なお, 各被検体について 5 例ずつ行い, 平均値 $\pm$ 標準誤差を求めた。対照薬物にアスピリンを用いた。

抗トロンビン作用 0.15 M NaCl-0.05 M トリス酢酸緩衝液 (pH 7.4) に溶解した 0.5% ウシフィブリノーゲン液 1.8 ml に被検液 0.1 ml を加え, 1 分後に最終濃度 0.2 U/ml のトロンビン液を 0.1 ml 加え, 30°C でフィブリノーゲン液の凝固時間を測定した。抗トロンビン作用はフィブリノーゲン液の凝固時間の延長を指標にした。なお, 各被検体について 5 例ずつ行い, 平均値 $\pm$ 標準誤差を求めた。対照薬物にヘパリンを用いた。

線溶系におよぼす作用 a) フィブリン平板の作製——Noren ら⁷⁾ の方法に準じ, 1% アガロース溶液を加熱溶解した後, 40°C に冷却後フィブリノーゲン (プラスミノーゲン含有が 166 mg/100 ml, プラスミノーゲン除去が 200 mg/100 ml) を加えた。この溶液を 10 ml ずつ試験管に分注し, トロンビン溶液 (100 U/ml) 0.1 ml を分注した後, シャーレに注ぎ, プラスミノーゲン含有あるいはプラスミノーゲン除去のフィブリン平板を作製した。

b) プラスミノーゲンの活性化作用——Astrup ら⁸⁾ の方法に準じ, 被検液をプラスミノーゲン含有フィブリン平板の穴に 20 μl ずつ注入した。 31°C , 20 時間放置後フィブリン溶解面積を測定した。

c) ウロキナーゼの増強作用——Astrup ら⁸⁾ の方法に準じ, 被検液 0.1 ml にウロキナーゼ液 (10 U/ml) 0.1 ml を混ぜ, 30 分後にプラスミノーゲン含有フィブリン平板の穴に 20 μl ずつ注入した。 31°C , 20 時間放置後フィブリン溶解面積を測定した。

d) プラスミンの活性化作用——Astrup ら⁸⁾ の方法に準じ, ウロキナーゼとプラスミノーゲン混液 (100 U/1 mg/1 ml) を 28°C , 30 分間反応させ, ウロキナーゼ, プラスミン混液とした溶液 0.1 ml を被検液 0.1 ml に加え攪拌した。30 分後にプラスミノーゲン除去フィブリン平板の穴に混合液を 20 μl ずつ注入し, 37°C , 18 時間放置後フィブリン溶解面積を測定した。

b), c), d) の被検体の活性化率あるいは阻害率は, 被検体無処置時のフィブリン溶解面積との比から求めた。なお, b), c), d) とともに各被検体 5 例ずつ行い, 平均値 $\pm$ 標準誤差を求めた。対照薬物にデキストラン硫酸を用いた。

実 験 結 果

エンドトキシンによる実験的 DIC におよぼす I の作用

a) 血液学的検査 i) 血小板数の変動——無処置群の血小板数が $53\pm 2\times 10^4/\text{mm}^3$ に対してエンドトキシンを静注した control 群の血小板数は時間の経過に伴って著しく減少した。エンドトキシン静注 1 時間前に I 200, 500 mg/kg を経口投与すると, I 500 mg/kg 投与群の 4, 24 時間後採血群は有意に血小板数の減少を抑制した (Table I)。

ii) フィブリノーゲン量の変動——無処置群のフィブリノーゲン量が $185\pm 11\text{ mg/dl}$ に対して control 群のフィブリノーゲン量は 2, 4 時間後では著しく減少したが, 24 時間後ではほぼ正常値に回復した。I 200, 500 mg/kg 投与群の 4 時間後採血群は有意にフィブリノーゲン量の減少を抑制した (Table II)。

TABLE I. Effect of I on the Blood Platelet of Endotoxin-Induced DIC in Rats

Treatment	Dose	Route	No. of rats	Blood platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)			
				0	2	4	24 h
Normal			10	53 $\pm$ 2			
Control			10		39 $\pm$ 6	17 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1
I	200 mg/kg	p.o.	10		32 $\pm$ 6	15 $\pm$ 2	7 $\pm$ 2
I	500 mg/kg	p.o.	10		32 $\pm$ 6	27 $\pm$ 4 ^{a)}	13 $\pm$ 3 ^{a)}

Each value represents mean $\pm$ S.E.a) Significantly different from control, $p < 0.05$.

TABLE II. Effect of I on the Fibrinogen of Endotoxin-Induced DIC in Rats

Treatment	Dose	Route	No. of rats	Fibrinogen (mg/dl)			
				0	2	4	24 h
Normal			10	185 $\pm$ 11			
Control			10		81 $\pm$ 5	32 $\pm$ 7	160 $\pm$ 5
I	200 mg/kg	p.o.	10		90 $\pm$ 15	58 $\pm$ 10 ^{a)}	171 $\pm$ 32
I	500 mg/kg	p.o.	10		99 $\pm$ 20	81 $\pm$ 14 ^{a)}	178 $\pm$ 17

Each value represents mean $\pm$ S.E.a) Significantly different from control, $p < 0.05$.

TABLE III. Effect of I on the Prothrombin Time of Endotoxin-Induced DIC in Rats

Treatment	Dose	Route	No. of rats	Prothrombin time (s)			
				0	2	4	24 h
Normal			10	15.8 $\pm$ 0.3			
Control			10		19.2 $\pm$ 0.3	23.2 $\pm$ 1.6	16.3 $\pm$ 0.7
I	200 mg/kg	p.o.	10		20.5 $\pm$ 0.7	20.7 $\pm$ 1.1	16.4 $\pm$ 1.8
I	500 mg/kg	p.o.	10		20.1 $\pm$ 1.4	18.7 $\pm$ 0.8 ^{a)}	16.0 $\pm$ 1.4

Each value represents mean $\pm$ S.E.a) Significantly different from control, $p < 0.05$.

iii) PTの変動——無処置群のPTが15.8 $\pm$ 0.3 sに対してcontrol群のPTはフィブリノーゲン量の変動と相反して4時間後まで延長し、24時間後には正常値に回復する傾向が認められた。Iは500 mg/kg投与群の4時間後採血群に有意な抑制作用が認められた (Table III).

iv) FDPの変動——無処置群のFDPが0.2 $\pm$ 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に対してcontrol群のFDPは2, 4時間後で増加し、24時間後では若干減少したが、正常値には回復しなかった。I 200, 500 mg/kg投与群は2, 4時間後では有意な作用は認められなかったが、24時間後採血群ではほぼ正常値にまで有意にFDPを減少させた (Table IV).

b) 肝臓の組織学的所見 エンドトキシン静注24時間後のcontrol群は肝切片1 cm²中に8.6 $\pm$ 2.2個 ($n=10$)の出血性壊死巣が観察された (Fig. 1). I 200, 500 mg/kg投与群 (各 $n=10$)のそれらは2.8 $\pm$ 2.0個, 1.3 $\pm$ 0.3個で有意 ($p < 0.01$)に出血性壊死巣の形成を抑制した (Fig. 2).

エンドトキシンによる実験的DICにおよぼすII, III, IVの作用

エンドトキシンによる血液像の変動に対して, II 200, 500 mg/kg投与群は血小板数, フィブリノーゲン量の減少を有意に抑制した. III 500 mg/kg投与群は血小板数, フィブリノーゲン量の減少を有意に抑制した. IV 200, 500 mg/kg投与群はまったく抑制作用が認められなかった (Table V).

トロンビンによる実験的DICにおよぼすIの作用

a) 血液学的検査 トロンビンをラット脛静脈に持続注入すると, 血小板数, フィブリノーゲン量が減少し,

TABLE IV. Effect of I on the FDP of Endotoxin-Induced DIC in Rats

Treatment	Dose	Route	No. of rats	FDP ($\mu\text{g/ml}$)			
				0	2	4	24 h
Normal			10	0.2 ± 0.1			
Control			10		0.3 ± 0.1	3.0 ± 0.6	2.0 ± 0.3
I	200 mg/kg	<i>p.o.</i>	10		0.4 ± 0.1	2.7 ± 0.6	$0.4 \pm 0.2^{a)}$
I	500 mg/kg	<i>p.o.</i>	10		0.5 ± 0.1	2.2 ± 0.8	$0.2 \pm 0.1^{a)}$

Each value represents mean $\pm$ S.E.

a) Significantly different from control $p < 0.01$.

a

b

Fig. 1. Rat Liver Formed the Hemorrhagic Necrosis Induced by Endotoxin (HE, a: $\times 50$, b: $\times 125$)

a

b

Fig. 2. Rat Liver Orally Administered I at a Dose of 500 mg/kg (HE, a: $\times 50$, b: $\times 125$)

PT が延長し、FDP が増加した。トロンビンとともに抗トロンビン剤のヘパリン (3 U/min/kg) を注入すると、血小板数、フィブリノーゲン量の減少を有意に抑制した。I 500 mg/kg 投与群は血小板数の減少を有意に抑制し、フィブリノーゲン量の減少を抑制する傾向が認められた。また、トロンビンによって増加した FDP をさらに増加させる傾向が認められた (Table VI)。

b) 腎臓の組織学的所見 トロンビン注入ラット (control 群, $n=16$) の腎臓はリンタングステン酸-ヘマトキシリン染色で濃紫色に染まるフィブリンが $33.3 \pm 10.1\%$ の糸球体に沈着していた (Fig. 3)。抗トロンビン剤のヘパリン注入群 ($n=16$) のそれは $3.8 \pm 3.4\%$ であった。I 200, 500 mg/kg 投与群 (各 $n=16$) のそれらは $19.7 \pm 8.4\%$, $10.8 \pm 4.4\%$ で 500 mg/kg 投与群に有意差 ($p < 0.05$) が認められた (Fig. 4)。

ELT におよぼす I の作用

Table VII に示したごとく、無処置群の ELT は 115.0 ± 23.0 min で、線溶活性化剤のデキストラン硫酸 10 mg/kg 静注群は有意に ELT を短縮した。I 500 mg/kg 投与群の ELT は 67.5 ± 10.5 min で、有意に ELT を短縮した。

血小板凝集抑制作用

エンドトキシン、コラーゲン、ADP、アラキドン酸による血小板凝集に対する各被検体の抑制率を Table VIII

TABLE V. Effect of II, III and IV on the Endotoxin-Induced DIC in Rats

Treatment	Dose	Route	No. of rats	Blood platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Fibrinogen (mg/dl)	Prothrombin time (s)	FDP ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Normal			10	92 ± 5	188 ± 9	12.2 ± 0.2	0.4 ± 0.6
Control			10	56 ± 9	112 ± 17	14.8 ± 0.7	7.6 ± 1.5
II	200 mg/kg	<i>p.o.</i>	10	70 ± 2^b	130 ± 5^a	15.0 ± 0.8	6.0 ± 0.5
II	500 mg/kg	<i>p.o.</i>	10	81 ± 13^b	147 ± 21^b	15.1 ± 2.1	5.7 ± 0.8
III	200 mg/kg	<i>p.o.</i>	10	65 ± 10	140 ± 7^a	13.2 ± 1.0	5.8 ± 1.0
III	500 mg/kg	<i>p.o.</i>	10	76 ± 4^a	153 ± 11^b	12.9 ± 0.6	5.6 ± 1.2
IV	200 mg/kg	<i>p.o.</i>	10	65 ± 7	110 ± 8	14.3 ± 0.7	6.5 ± 0.8
IV	500 mg/kg	<i>p.o.</i>	10	69 ± 9	107 ± 10	13.7 ± 0.3	6.0 ± 0.9

Each value represents mean $\pm$ S.E.

a) Significantly different from control, $p < 0.05$.

b) Significantly different from control, $p < 0.01$.

TABLE VI. Effect of I on the Thrombin-Induced DIC in Rats

Treatment	Dose	Route	No. of rats	Blood platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Fibrinogen (mg/dl)	Prothrombin time (s)	FDP ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Normal			8	68 ± 3	168 ± 14	17.0 ± 1.5	0.1 ± 0.1
Control			8	52 ± 6	52 ± 6	32.1 ± 6.2	3.5 ± 0.9
I	200 mg/kg	<i>p.o.</i>	8	55 ± 5	67 ± 15	30.5 ± 6.6	5.2 ± 1.6
I	500 mg/kg	<i>p.o.</i>	8	66 ± 4^a	77 ± 6	31.5 ± 5.0	5.4 ± 1.2
Heparin	3U/min/kg	<i>i. v.</i>	8	72 ± 5^a	134 ± 21^b	19.6 ± 3.4	3.3 ± 0.7

Each value represents mean $\pm$ S.E.

a) Significantly different from control, $p < 0.05$.

b) Significantly different from control, $p < 0.01$.

Fig. 3. Rat Renal Glomeruli Formed the Fibrin Thrombi Induced by Thrombin (PTAH, $\times 125$)

Fig. 4. Rat Renal Glomeruli Orally Administered I at a Dose of 500 mg/kg (PTAH, $\times 125$)

に示した。プロスタグランジン合成阻害を作用機序とする血小板凝集抑制剤であるアスピリンはコラーゲンによる血小板凝集に対しては強い抑制作用が認められ、次いでアラキドン酸による血小板凝集に対しても弱い抑制作用が認められたが、エンドトキシン、ADPによる血小板凝集に対してはほとんど抑制作用が認められなかった。I はいずれの血小板凝集に対してもまったく抑制作用が認められなかったが、II はコラーゲンによる血小板凝集をアスピリンよりも強く抑制した。III はコラーゲンによる血小板凝集を若干抑制したが、IV はまったく血小板凝集抑制作用が認められなかった。

抗トロンビン作用

0.2 U/ml のトロンビンは 0.5% ウシフィブリノーゲン液を 160 ± 5 s で凝固させた。この系に抗トロンビン剤のヘパリン (10 U/ml) を共存させると、凝固時間が 243 ± 4 s に延長した。I は 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で凝固時間を 185 ± 3 s に、II は 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 223 ± 3 s に、III は 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 242 ± 3 s に凝固時間を有意に延長した (Table IX)。

TABLE VII. Effect of I and Dextran Sulphate on the Euglobulin Lysis Time in Rats

Treatment	Dose	Route	No. of rats	ELT ^{a)} (min)
Normal			8	115.0±23.0
I	200 mg/kg	<i>p.o.</i>	8	97.5±17.8
I	500 mg/kg	<i>p.o.</i>	8	67.5±10.5 ^{b)}
Dextran sulphate	1 mg/kg	<i>i. v.</i>	8	61.8±10.8 ^{b)}
Dextran sulphate	10 mg/kg	<i>i. v.</i>	8	36.1± 3.5 ^{c)}

Each value represents mean±S.E.

a) ELT: Euglobulin lysis time.

b) Significantly different from control, $p<0.05$.

c) Significantly different from control, $p<0.01$.

TABLE VIII. Effects of I, II, III, IV and Aspirin on the Blood Platelet Aggregation

	Endotoxin-induced platelet aggregation	Collagen-induced platelet aggregation			ADP-induced platelet aggregation	Arachidonic acid- induced platelet aggregation
	500	50	250	500	500	500(μ g/ml)
I	—	—	—	—	—	—
II	25.0±5.0	44.7±2.3	67.7±5.0	95.0±1.9	25.3±2.4	25.2±2.8
III	—	—	10.1±2.3	35.8±2.0	—	5.2±2.0
IV	—	—	—	—	—	—
Aspirin	10.5±3.4	—	35.3±5.3	65.3±4.0	5.8±1.2	27.2±4.0

Each value represents inhibitory percentage (mean±S.E., five experiments) compared with control.

TABLE IX. Effects of I, II, III, IV and Heparin on the Agglutination of Fibrinogen Solution by Thrombin

Treatment	Clotting time of fibrinogen (s)			
	0	100	250	500 (μ g/ml)
Control	160±5	—	—	—
I	—	—	163±10	185±3 ^{a)}
II	—	170±5	223± 3 ^{a)}	273±5 ^{a)}
III	—	—	172± 5	242±3 ^{a)}
IV	—	—	—	55±7
Heparin (10U/ml)	243±4 ^{a)}	—	—	—

Each value represents mean±S.E. of five experiments.

a) Significantly different from control, $p<0.01$.

線溶系におよぼす作用

a) プラスミノーゲンの活性化作用 I, II, III, IV およびデキストラン硫酸はまったくプラスミノーゲンの活性化作用が認められなかった。

b) ウロキナーゼの増強作用 プラスミノーゲン含有フィブリン平板にウロキナーゼ (10 U/ml) と被検液の混液を注入すると, I, III およびデキストラン硫酸に濃度依存性のウロキナーゼ増強作用が認められた。II はこの系に対して阻害する作用が認められた (Table X)。

c) プラスミンの活性化作用 I, II, III, IV およびデキストラン硫酸ともにまったくプラスミンの活性化作用が認められなかった。

結 論 お よ び 考 察

薬用人参は古来, 不老長寿の霊薬として用いられてきた漢薬で, 血管内血栓形成による循環障害に対する予防,

TABLE X. Effects of I, II, III, IV and Dextran Sulphate on the Activity of Plasminogen by Urokinase

Treatment	Activity percentage (%)				
	10	50	100	250	500 ($\mu\text{g/ml}$)
I	0.3 ± 0.7	1.0 ± 0.3	12.6 ± 1.6	25.3 ± 3.4	31.7 ± 1.7
II	—	—	—	—	—
III	2.3 ± 1.5	10.4 ± 2.3	20.7 ± 4.4	38.8 ± 6.3	42.6 ± 0.9
IV	3.6 ± 1.8	4.5 ± 3.4	9.3 ± 1.8	10.2 ± 2.2	12.2 ± 6.4
Dextran sulphate	4.3 ± 1.5	18.7 ± 3.4	38.9 ± 2.2	58.3 ± 2.3	62.3 ± 5.4

Each value represents activity percentage (mean $\pm$ S.E., five experiments) compared with control.

治療作用が期待できることから、今回、エンドトキシンによる実験的 DIC に対する作用を検討したところ、韓国産の6年根オタネニンジン (*Panax ginseng* C. A. MEYER) を蒸して乾燥させた紅参の 70% メタノールエキス (I) に以下の予防作用が認められた。

まず、ラットの実験的 DIC に対する紅参の作用を検討した。ラットにエンドトキシンを静注し、惹起される DIC の指標として、血小板数、フィブリノーゲン量、PT、FDP を経時的に測定したところ、control 群は 2, 4 時間後では血小板数、フィブリノーゲン量が減少し、PT が延長し、血栓形成に伴う二次線溶のために FDP は増加した。24 時間後では DIC の反復性⁹⁾のためにフィブリノーゲン量、PT、FDP は正常値に回復する傾向が認められた。I はこれら DIC を反映する血液データの変動を抑制する作用が認められた。さらに、I はエンドトキシンによる肝臓での出血性壊死巣の形成を抑制する作用が認められた。

また、紅参の有効成分の検索を目的に、I の各分画部のエンドトキシンによる実験的 DIC に対する作用を、エンドトキシン静注 4 時間後の血液データを指標に検討したところ、II, III に血小板数、フィブリノーゲン量の減少を抑制する作用が認められた。

血栓誘発剤に用いたエンドトキシンは細菌内毒素で、血中に入り込むと、内因性凝固および外因性凝固の活性化、血小板凝集、白血球の遊走、補体系の活性化など多彩な生体内反応を介して DIC を誘発する¹⁰⁾が、その主因は内因性および外因性凝固を活性化し、トロンビンが産生され、このトロンビンが直接的に DIC を誘発するといわれている。¹⁰⁾そこで、I の作用機序を解明する目的で、トロンビンの静注で誘起する実験的 DIC に対する I の作用を検討した結果、静注 30 分後には DIC を反映する血液データが認められ、組織学的にも腎糸球体にフィブリンの沈着が認められた。この実験モデルに抗トロンビン剤のヘパリンを投与すると、血小板数およびフィブリノーゲン量の減少、腎糸球体でのフィブリン沈着を有意に抑制した。I は 500 mg/kg の投与量で血小板数の減少を有意に抑制し、フィブリノーゲン量の減少を抑制する傾向が認められた。I 500 mg/kg 投与群は組織学的にも腎糸球体でのフィブリン沈着を有意に抑制した。トロンビンによる FDP の増加に対してはヘパリン投与群に減少傾向を認めたが、I 投与群はトロンビンによる FDP の増加をさらに増加させる傾向を示し、ヘパリンと作用機序を異にすることが認められた。FDP は血中のフィブリノーゲンやフィブリンが線溶酵素のプラスミンによって分解されたもので、I の投与によって FDP が増加したことから、I に線溶系の活性化作用が考えられる。

そこで、線溶系に対する作用を ELT 法にて検討したところ、I に ELT を短縮させる作用 (線溶活性化作用) が認められた。

次に、*in vivo* の結果から予想される血小板凝集抑制作用、抗トロンビン作用、線溶系の活性化作用を *in vitro* で検討したところ、I に弱い抗トロンビン作用およびウロキナーゼ作用の増強による線溶系の活性化作用が認められた。血小板凝集に対しては、実験的 DIC 時には血小板数の減少を抑制したにもかかわらず、*in vitro* ではコラーゲン、ADP、エンドトキシン、アラキドン酸による血小板凝集に対して I は抑制作用を認めなかった。よって実験的 DIC に認められた I の血小板数減少抑制作用はトロンビンによる血小板凝集に対する拮抗作用か、あるいは経口的に投与された I の含有成分が消化器系や肝臓等で化学変化を受け、血小板の凝集を抑制している可能性が考えられる。中西ら¹¹⁾は健康成人に紅参末 3 g を経口投与した後に採血した血液から調整した多血小板血漿が ADP、エピネフリン、コラーゲンによる血小板凝集を抑制したと報告していることから、後者の可能性は

十分に考えられ、詳細は今後検討の予定である。

謝辞 韓国産紅参を提供していただいた日韓高麗人蔘株式会社 陳 崑霖氏、高麗蔘興業株式会社 陳 英智氏に感謝します。

引用文献

- 1) 唐 慎微 (編), “經史證類大觀本草,” 国立中国医薬研究所出版, 1971, p. 39.
- 2) 大浦彦吉, 熊谷 朗, 柴田承二, 高木敬次郎 (編), “薬用人参, その研究と進歩,” 共立出版, 東京, 1981, pp. 80—213.
- 3) 松岡松三, 医学のあゆみ, **109**, 703 (1979).
- 4) a) T. H. Schoendorf, M. Rosenberg, F. K. Beller, *Am. J. Path.*, **65**, 51 (1971); b) H. Whigham, M. H. Well, *J. App. Physiol.*, **21**, 1860 (1966); c) W. Margaretten, I. Csarossy, D. G. McKay, *J. Lab. Invest.*, **13**, 552 (1964).
- 5) K. N. Kaulla, R. L. Schultz, *Am. J. Clin. Path.*, **29**, 104 (1958).
- 6) G. V. R. Born, M. J. Cross, *J. Physiol.*, **168**, 178 (1963).
- 7) I. Noren, G. Ramstrom, P. Wallen, *Haemostasis*, **4**, 110 (1952).
- 8) T. Astrup, S. Mullertz, *Arch. Biochem. Biophys.*, **40**, 346 (1952).
- 9) D. G. McKay, “Coagulation,” (ed.) G. Schmer, R. E. Stranjord, Academic Press, N. Y., 1973, p. 45.
- 10) a) 早坂 滉, 秋山守文, 医学のあゆみ, **109**, 809 (1979); b) R. W. Colman, S. J. Robby, J. D. Minna, *Amer. J. Med.*, **52**, 697 (1972).
- 11) 中西幸三, 田原 実, 金子 仁, 村山 光, 桑島恵一, 池田匡一, 近藤 優, 海藤秀敏, 臨床と研究, **57**, 323 (1980).