柴胡剤の薬理学的研究 (第5報¹⁾) 小柴胡湯のラット足蹠浮腫に対する作用機序²⁾

加藤正秀,* 丸本正彦, 林 真知子, 前田利男, 林 栄一

静岡薬科大学

Pharmacological Studies on Saiko-Prescriptions. V.¹⁾ Mechanisms of
Actions of Shosaiko-to on Swelling of Rat Hind
Paws Induced by Carrageenin²⁾

MASAHIDE KATO,* MASAHIKO MARUMOTO, MACHIKO HAYASHI,
TOSHIO MAEDA and EIICHI HAYASHI

Shizuoka College of Pharmacy, 2-2-1, Oshika, Shizuoka, 422, Japan

(Received October 8, 1983)

The present experiments were carried out to investigate the mechanisms of anti-inflammatory action of Shosaiko-to.

The intraperitoneal administration of Shosaiko-to to rats produced increases in corticosterone level in the serum, adrenocorticotropine (ACTH) level in the plasma and cyclic adenosine monophosphate contents in the pituitary and adrenal gland. The elevations of serum corticosterone and plasma ACTH level induced by Shosaiko-to were inhibited by the treatment with dexamethasone (2.5 mg/kg, *i.p.*). Basal and ACTH-induced secretions of corticosterone from adrenal slices were not influenced by Shosaiko-to *in vitro*. Although Shosaiko-to did not increase plasma ACTH level in adrenalectomized rats, the action of Shosaiko-to to increase plasma ACTH level was observed in adrenalectomized rats which was administered corticosterone to maintain normal corticosterone level in the serum.

Shosaiko-to produced a marked inhibition in exudate volume and leukocyte number in carrageenin-induced pleurisy of rats. Also chemotaxis of rat polymorphonuclear leukocytes and histamine release from rat peritoneal mast cells were suppressed by Shosaiko-to *in vitro*.

Of the constituent crude drugs, Bupleuri Radix, Scutellariae Radix, Glycyrrhizae Radix and Ginseng Radix induced a marked elevation of serum corticosterone level. The histamine release from rat peritoneal mast cells was suppressed by Bupleuri Radix and Glycyrrhizae Radix.

These results suggest that Shosaiko-to may produce an antiinflammatory effect by at least two mechanisms in rats. One is a stimulating action on the pituitary-adrenocortical function, and the other is direct inhibitions of histamine release from rat peritoneal mast cells and chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes.

Keywords—traditional Chinese medicine; kanpo-prescription; saiko-zai; bupleuri radix; anti-inflammatory action; plasma ACTH; serum corticosterone; carrageenin-induced pleurisy

前報¹⁾において小柴胡湯が腹腔内投与によりラットの carrageenin 足蹠浮腫を著明に抑制すること,そしてその抑制作用の機序としては,副腎を介する作用系とその他の作用系に基づくことが推察された。

ところで,炎症の進行は第1期の血管透過性の亢進,第2期の白血球遊走期および第3期の増殖期の3期に分類される。小柴胡湯の抗炎症作用が副腎を介するとするならば,副腎から分泌が促進された corticosterone が,炎症進行の各過程でいずれも著明に抑制することが考えられる。そこで,小柴胡湯と血中 corticosterone レベルとの関係,また, corticosterone 分泌に関係深い脳下垂体からの adrenocorticotrophic hormone (ACTH) の分泌,ひいては内分泌組織における adenosine 3',5'-cyclic monophosphate (c-AMP) について検討した。また,副腎系を介さない作用系として炎症の第1期に関与する肥満細胞からの histamine の遊離および第2期に関与する多核

白血球の遊走に対する小柴胡湯の影響を検討した。

実 験 方 法

1. 実験に用いた生薬 次の 7 生薬は、名古屋市場より購入した。柴胡 (Bupleuri Radix, 中国産), 半夏 (Pinelliae Tuber, 韓国産), 黄芩 (Scutellariae Radix, 中国産), 生姜 (Zingiberis Rhizoma, 日本産), 大棗 (Zizyphi Inermi Fructus, 中国産), 人参 (Ginseng Radix, 韓国産), 甘草 (Glycyrrhizae Radix, 中国産)。

2. 試薬 Corticosterone (Sigma), dexamethasone (Sigma), β^{1-24} -ACTH (第一製薬) indomethacin (Sigma), carrageenin (Sigma), casein (和光純薬), histamine diphosphate (和光純薬), compound 48/80 (Sigma)。

3. 試料の調製法 前報¹⁾に準じて、小柴胡湯の処方 (柴胡 7, 半夏 5, 黄芩 3, 生姜 4, 大棗 3, 人参 3 および甘草 2 g) の凍結乾燥物を得た。その凍結乾燥物を用時等張となるよう食塩液で溶解し、3000 r.p.m. で 10 min 間遠心分離した後その上清を小柴胡湯の検体とした。

4. 実験動物 体重 150—250 g の Wistar 系雄性ラットを、各実験群 5—7 匹用いた。

5. 副腎摘出動物の作製 Sodium pentobarbital (40 mg/kg) を腹腔内 (*i.p.*) 投与し、麻酔下で側背部から両側副腎を摘出した。偽手術の場合は、側背部を開き副腎をピンセットで軽くふれたのみである。術後は、生理食塩液を自由に摂取させ 4 日間飼育したものを実験に供した。

6. 血清および副腎 Corticosterone, 血漿 ACTH および内分泌組織の 3',5'-Cyclic AMP に対する作用 日内リズムによる影響を避けるため、小柴胡湯をラットに 9:00 a.m. に *i.p.* 投与 (0.2 ml/100 g) し、一定時間後に採血・屠殺し、血清および副腎の corticosterone, 血漿 ACTH および内分泌組織の c-AMP を測定した。Corticosterone は Zenker ら³⁾の方法に準じ、血漿 ACTH はラジオイムノアッセイキット (CIS) で、組織中の c-AMP は c-AMP アッセイキット (ヤマサ) で測定した。

7. Dexamethasone および Corticosterone 前処置における ACTH 分泌に対する作用 脳下垂体からの ACTH 分泌を抑制するため、dexamethasone 2.5 mg/kg の 2.5% エタノール溶液を小柴胡湯投与 3 h 前に投与した。また、副腎摘出ラットの血清 corticosterone レベルを正常ラットと同じに維持するため、Buckingham ら⁴⁾の方法に準じ corticosterone を 160 μ g/ml の濃度で生理食塩液に溶解し、自由に摂取させ 4 日間飼育した。

8. 副腎切片からの Corticosterone 分泌に対する作用 副腎切片からの corticosterone の測定に当っては、Silber ら⁵⁾の方法に準じて行った。

9. Carrageenin 胸膜炎に対する作用 Carrageenin 胸膜炎は、Hurley ら⁶⁾の方法に準じて作製した。すなわち、ラットに 2% carrageenin 0.1 ml をエーテル麻酔下で胸腔内に注入し、15 h 後屠殺し胸水をポリエチレン製のピペットで採集した。その容量を計測した後、さらに胸腔内を 0.2% EDTA-生理食塩液で洗浄して胸水と洗液の全量を 5 ml とし、その白血球数をマイクロセルカウンター (TOA, CC-1002 型) で測定した。小柴胡湯は、carrageenin 投与 2 h 前に 200 mg/kg, *i.p.* 投与し、対照薬の dexamethasone は同様に 1 h 前に経口投与した。

10. 多核白血球の遊走性に対する作用 多核白血球の調製は、Reed ら⁷⁾の方法に準じて行い、遊走試験は、Boyden⁸⁾の方法に準じて行った。Boyden の装置は、孔径 3 μ , 厚さ 155 μ のメンブランフィルター (東洋汙紙 TM-300) を用いて Maroni ら⁹⁾の方法により作製した。上室に 0.2 ml の多核白血球浮遊液 (5×10^6 cells/ml) を加え、下室に化学遊走因子として 0.25% casein-Gey's buffer (pH 7.4) を 8 ml 加えた。小柴胡湯を Gey's buffer に溶かし、上室と下室に同一濃度になるように加え、37°C, 3 h インキュベートした。次に、メンブランフィルターを剥離し、メタノール固定した後、hematoxyline 染色を行い鏡検測定した。

11. 肥満細胞からの Histamine 遊離に対する作用 肥満細胞の調製は、Atkinson ら¹⁰⁾の方法に準じて行い、細胞の histamine 量は、Anton ら¹¹⁾の方法により測定した。Histamine 遊離率は、総 histamine 量に対する遊離した histamine 量の百分率で示した。また、compound 48/80 による肥満細胞からの遊離に対する検体の抑制率は次式により算出した。

$$\text{抑制率} = \frac{H_1 - H_2}{H_1} \times 100 (\%)$$

H_1 : 検体の非存在下での compound 48/40 による histamine 遊離率

H_2 : 検体の存在下での compound 48/80 による histamine 遊離率

結 果

1. 血清および副腎の Corticosterone に対する作用

小柴胡湯 200 mg/kg の *i.p.* 投与 1 h 後の血清 corticosterone レベルは 6 倍に、2 h 後のそれは 7 倍にも上昇

し、4 h で元のレベルに回復した。副腎自身の corticosterone レベルも 3 h 後に 1.8 倍と有意に上昇した (Fig.1).

次に、小柴胡湯の構成生薬について検討した。柴胡、黄芩、人参、甘草および生姜は著明に、大棗、半夏でも有意に血清 corticosterone レベルの上昇を示した (Table I). 一方、副腎の corticosterone レベルは、黄芩、柴胡が小柴胡湯と同程度の上昇を示したが、生姜、大棗では無影響であった。

2. 血清 Corticosterone, 血漿 ACTH および内分泌組織の c-AMP に対する作用

小柴胡湯 200 mg/kg の *i.p.* 投与 1 h 後では、血清 corticosterone および血漿 ACTH レベルともに 5 倍上昇し、c-AMP は下垂体および副腎とともに 3 倍上昇した。しかし、視床下部では変化がなかった (Table II, III). 一方、脳下垂体、副腎の重量には何んら影響がみられなかった。

以上の結果から小柴胡湯は、脳下垂体や副腎の c-AMP レベルを高め、ついで ACTH ひいては corticosterone の分泌を高めることが示唆された。

Fig. 1. Effect of Shosaiko-to on the Corticosteron Levels in Serum and Adrenal Gland

Shosaiko-to (●, 200 mg/kg) and saline (○) were intraperitoneally administered. Each point shows the mean ± S.E. of 5 animals.

a) Significantly different from control ($p < 0.05$), b) $p < 0.01$.

TABLE I. Effect of Shosaiko-to and Its Constituent Crude Drugs on the Levels of Adrenal Gland Corticosterone in Rats

Crude drugs	Weight of adrenal gland (mg/100 g)	Corticosterone	
		Serum (µg/100 ml)	Adrenal gland (µg/100 mg)
Control (Saline)	15.4 ± 1.28	12.4 ± 1.42	5.0 ± 0.47
Shosaiko-to	14.3 ± 1.24	72.8 ± 1.88 ^{a)}	8.1 ± 0.95 ^{a)}
Bupleuri Radix	15.1 ± 1.33	57.9 ± 3.16 ^{a)}	7.8 ± 0.60 ^{a)}
Pinelliae Tuber	16.6 ± 0.23	25.0 ± 2.49 ^{a)}	—
Scutellariae Radix	17.3 ± 1.37	67.7 ± 4.79 ^{a)}	8.2 ± 1.00 ^{a)}
Zingiberis Rhizoma	16.5 ± 0.65	30.8 ± 3.50 ^{a)}	5.6 ± 0.30
Zizyphi Inermi Fructus	16.5 ± 0.54	20.6 ± 2.16 ^{a)}	5.1 ± 0.53
Ginseng Radix	14.8 ± 0.87	51.0 ± 3.03 ^{a)}	—
Glycyrrhizae Radix	16.8 ± 1.27	44.0 ± 3.05 ^{a)}	—

Animals were decaptured 2 h after intraperitoneal administration of Shosaiko-to (200 mg/kg) and crude drugs (100 mg/kg). Each value represents the mean ± S.E. of 5 animals.

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

3. Dexamethasone 処理ラットにおける血清 Corticosterone, 血漿 ACTH および内分泌組織の c-AMP に対する作用

Dexamethasone 2.5 mg/kg を *i.p.* 投与した場合, 血清 corticosterone レベルは対照の 1/2 に低下し, 血漿 ACTH レベルは 1/5 に低下した (Table IV). Dexamethasone 非処理ラットで認められた小柴胡湯の血清 corticosterone レベルおよび血漿 ACTH レベルの上昇作用は, 小柴胡湯投与 3 h 前に dexamethasone を *i.p.* 投与することにより著明に抑制された.

また, dexamethasone の 2.5 mg/kg を *i.p.* 投与した場合, 視床下部, 脳下垂体および副腎の c-AMP は, 対照のそれぞれ 1/6, 1/2 および 1/4 に低下した. 内分泌組織での c-AMP レベルは, 視床下部が最も影響を受けた (Table V). 小柴胡湯 (200 mg/kg, *i.p.*) を投与した場合に見られた脳下垂体および副腎の c-AMP レベルの上昇は, dexamethasone 処理により著明に抑制された.

4. 副腎摘出ラットにおける血清 Corticosterone および血漿 ACTH に対する作用

副腎非摘出 (偽手術) ラットに小柴胡湯 200 mg/kg を *i.p.* 投与した場合, 血清 corticosterone は対照の 4 倍に上昇した (Table VI). 副腎摘出後 4 日目には血清 corticosterone は検出されなかったが, この間 corticosterone を

TABLE II. Effect of Shosaiko-to on the Levels of Serum Corticosterone and Plasma ACTH in Rats

Treatments	Serum corticosterone ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	Plasma ACTH (pg/ml)
Control (Saline)	12.8 $\pm$ 1.32	76.4 $\pm$ 19.83
Shosaiko-to	64.4 $\pm$ 2.59 ^{a)}	334.3 $\pm$ 22.12 ^{a)}

Shosaiko-to (200 mg/kg) was intraperitoneally administered. Rats were decapitated 1 h after the last treatment with Shosaiko-to. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 animals.

^{a)} Significantly different from control ($p < 0.01$).

TABLE III. Effect of Shosaiko-to on Cyclic AMP Content and Organ Weight

Treatments	Cyclic AMP (nmol/g tissue)			Organ weight (mg/100 g)	
	Hypothalamus	Pituitary	Adrenal gland	Pituitary	Adrenal gland
Control (Saline)	6.5 $\pm$ 0.26	1.2 $\pm$ 0.13	2.3 $\pm$ 0.45	4.1 $\pm$ 0.17	19.4 $\pm$ 0.57
Shosaiko-to	6.8 $\pm$ 0.56	3.9 $\pm$ 0.61 ^{a)}	8.7 $\pm$ 1.41 ^{a)}	4.3 $\pm$ 0.13	19.3 $\pm$ 0.49

Shosaiko-to was administered as described in Table I. Animals were decapitated 1 h after the last treatment with Shosaiko-to. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 animals.

^{a)} Significantly different from control ($p < 0.01$).

TABLE IV. Effects of Shosaiko-to on Serum Corticosterone and Plasma ACTH in Dexamethasone Treated Rats

Treatment	Dexamethasone (mg/kg)	
	0	2.5
Serum corticosterone ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)		
Control (Saline)	12.8 $\pm$ 1.32	6.4 $\pm$ 0.38
Shosaiko-to	64.4 $\pm$ 2.59 ^{a)}	17.4 $\pm$ 5.06
Plasma ACTH (pg/ml)		
Control (Saline)	76.4 $\pm$ 19.81	16.4 $\pm$ 5.68
Shosaiko-to	334.2 $\pm$ 22.13 ^{a)}	13.4 $\pm$ 3.60

Dexamethasone was intraperitoneally injected 3 h before the administration of Shosaiko-to (200 mg/kg *i.p.*). One hour after the administration of Shosaiko-to, animals were decapitated to obtain blood. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 animals.

^{a)} Significantly different from control ($p < 0.01$).

TABLE V. Effect of Shosaiko-to on Cyclic AMP Levels in Dexamethasone Treated Rats

Treatments	Dexamethasone (mg/kg)	
	0	2.5
Hypothalamus		
Control (Saline)	6.49 $\pm$ 1.68	0.95 $\pm$ 0.047
Shosaiko-to	7.20 $\pm$ 2.59	1.06 $\pm$ 0.063
Pituitary		
Control (Saline)	1.18 $\pm$ 0.131	0.76 $\pm$ 0.062
Shosaiko-to	3.94 $\pm$ 0.614 ^{a)}	0.83 $\pm$ 0.094
Adrenal gland		
Control (Saline)	2.32 $\pm$ 0.452	0.67 $\pm$ 0.095
Shosaiko-to	8.66 $\pm$ 1.422 ^{a)}	0.83 $\pm$ 0.116

Dexamethasone and Shosaiko-to were administered as described in Table IV. One hour after the administration of Shosaiko-to, rats were decapitated and various tissues were excised. Tissues were immediately frozen in liquid nitrogen, weighted and homogenized in 6% TCA. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 animals.

^{a)} Significantly different from control ($p < 0.01$).

TABLE VI. Effects of Shosaiko-to on Serum Corticosterone and Plasma ACTH Level in Adrenalectomized Rats

Treatments	Sham operation	Adrenalectomy	Adrenalectomy + corticosterone
Serum corticosterone ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)			
Control (Saline)	12.5 $\pm$ 1.76	—	10.8 $\pm$ 0.65
Shosaiko-to	51.2 $\pm$ 0.98 ^{a)}	—	11.3 $\pm$ 0.42
Plasma ACTH (pg/ml)			
Control (Saline)	69.6 $\pm$ 10.22	509.3 $\pm$ 63.32	39.4 $\pm$ 1.72
Shosaiko-to	336.2 $\pm$ 30.63 ^{a)}	504.1 $\pm$ 86.43	82.6 $\pm$ 12.21 ^{a)}

Corticosterone was administered to adrenalectomized rats for 4 d as described in methods. One hour after the administration of Shosaiko-to (200 mg/kg *i.p.*), rats were decapitated to obtain blood. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 animals.

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

160 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含む生理食塩液で自由摂取させると、正常な血中 corticosterone レベルを維持することができた。このラットに小柴胡湯を投与しても血清 corticosterone レベルの変動は認められなかった。

副腎摘出ラットの血漿 ACTH レベルは、非摘出ラットの7倍にも上昇した。副腎非摘出ラットに小柴胡湯を投与した場合、血漿 ACTH は対照の5倍に上昇したものの、摘出ラットでの影響はみられなかった。副腎摘出ラットに corticosterone を投与し、血清 corticosterone レベルを正常に維持した場合、小柴胡湯投与による著明な血漿 ACTH レベルの上昇が認められた。

5. 副腎切片からの Corticosterone 分泌に対する作用

副腎切片を *in vitro* でインキュベートした場合、メジウム中への corticosterone 分泌が検出されたが、小柴胡湯をメジウムに添加しても corticosterone の分泌量に変化はなかった。また、メジウム中に ACTH を添加すると corticosterone 分泌は4—5倍に増加したが、小柴胡湯は ACTH による corticosterone 分泌促進にも影響しなかった (Table VII)。

TABLE VII. Effect of Shosaiko-to on Corticosterone Release from Adrenal Gland *in Vitro*

Treatments	Corticosterone ($\mu\text{g}/100\text{ mg tissue/h}$)	
	Without ACTH	With ACTH (10 ng/ml)
Control (Saline)	4.1 $\pm$ 0.06	18.4 $\pm$ 1.75
Shosaiko-to (1×10^{-4} g/ml)	4.3 $\pm$ 0.28	21.6 $\pm$ 0.44

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of triplicate experiments.

6. Carrageenin 胸膜炎に対する作用

起炎物質 (2% carrageenin) によりラットに胸膜炎を惹起させると血管透過性が亢進し、胸膜腔に滲出液が貯留し白血球数が増加する。このような病態モデルに小柴胡湯 200 mg/kg を *i.p.* 投与したところ、滲出液量は43%、白血球数は39%の抑制がみられた (Table VIII)。

TABLE VIII. Effect of Shosaiko-to on Carrageenin Induced Pleurisy

Treatments	Exudate volume (ml)	Leukocytes ($\times 10^{-6}$)
Control (Saline)	3.13 $\pm$ 0.213	217 $\pm$ 19.9
Shosaiko-to	1.78 $\pm$ 0.056 ^{a)}	132 $\pm$ 11.6 ^{a)}
Dexamethasone	0.16 $\pm$ 0.093 ^{a)}	66 $\pm$ 9.9 ^{a)}

Pleurisy was induced by the intrapleural injection of 2% carrageenin (0.1 ml). Shosaiko-to (200 mg/kg) was intraperitoneally administered. Dexamethasone (0.25 mg/kg *p.o.*) was administered 1 h before the injection of carrageenin. Fifteen hours after the injection of carrageenin, exudate volume and leukocytes number in pleural cavity were measured. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 animals.

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

7. 多核白血球の遊走に対する作用

炎症時には、毛細血管からの多核白血球の遊走が旺盛になるが、ここでは多核白血球浮遊液に casein を加えることによって生ずる chemotaxis に対する影響を検討した。小柴胡湯は、多核白血球の遊走を用量依存的に抑制したが、その抑制作用は indomethacin の約 1/10 であった (Fig. 2)。

8. 肥満細胞からの Histamine 遊離に対する作用

Compound 48/80 による肥満細胞からの histamine 遊離に対し、小柴胡湯、柴胡、黄芩、甘草は用量依存的に抑制作用を示し、その作用は indomethacin と同程度かあるいはそれ以上であった。人参、生姜および大棗では、抑制作用はみられなかった (Fig. 3)。

考察および総括

副腎摘出ラットの carrageenin 足蹠浮腫に対し、小柴胡湯による浮腫抑制効果が著しく減弱する結果が得られた¹⁾ことから、小柴胡湯の抗炎症作用には、corticosterone の関与が先ず考えられた。本来、副腎皮質からの内因性の glucocorticoid が消炎に関与すること、一方、外因性の glucocorticoid も炎症に対して強い抑制作用を示すということは公知のことである。¹²⁾ また、ラットの glucocorticoid のほとんどが corticosterone³⁾ であるところから、先ず小柴胡湯と corticosterone レベルの消長を検討した。

Fig. 2. Effect of Shosaiko-to on Chemotaxis of Polymorphonuclear Leukocytes

After incubation for 3 h at 37°C with Shosaiko-to (●) and indomethacin (○), chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes was measured by the method of Boyden. Each point shows the mean of 3 experiments.

Fig. 3. Effects of Shosaiko-to and Its Constituent Crude Drugs on Histamine Release from Rat Peritoneal Mast Cells

The cells suspension was preincubated with (A) ● Shosaiko-to; △ Bupleuri Radix; ○ Zingiberis Rhizoma; ▲ Zizyphi Inermi Fructus; □ indomethacin; (B) × Pinelliae Tuber; ▲ Scutellariae Radix; □ Ginseng Radix; △ Glycyrrhizae Radix for 5 min at 37°C, and incubated with compound 48/80 (0.5 µg/ml) for 10 min at 37°C. Histamine was measured by the spectrofluorometric assay. Each point shows the mean of 3 experiments.

小柴胡湯の *i.p.* 投与により血清および副腎での corticosterone レベルは、数倍に上昇した。また、小柴胡湯を構成している生薬の全てが、その作用力に強弱があるものの血清 corticosterone レベルを上昇させた。ところで、構成生薬の corticosterone に対する作用機序については未詳であるが、2, 3 の文献を参照してみると saikosaponins¹³⁾ や ginsenosides¹⁴⁾ は血清 corticosterone および血漿 ACTH レベルを上昇させる。そして、これらおよび glycyrrhizin のようなトリテルペン系のサポニン、構造上ステロイドホルモンと類似していることからステロイドホルモンの分泌増加に影響を及ぼすことなどが述べられている。これらの単一生薬の成分の作用から小柴胡湯の作用機序は推定出来ないが、とにかくその作用性の一端をうかがうことは出来るであろう。

次に、血漿 ACTH、内分泌組織の c-AMP レベルに対する小柴胡湯の影響を検討した。副腎からの corticosterone の分泌^{15, 16)} に関連した脳下垂体からの ACTH の分泌^{17, 18)} は、内分泌組織の c-AMP レベルと相関関係があると報告されている。小柴胡湯投与後の副腎、脳下垂体、視床下部の c-AMP レベルは、前 2 者で上昇し、視床下部では無影響であった。このことから、小柴胡湯による血清 corticosterone レベルの上昇は、脳下垂体の c-AMP レベルを高め、血中への ACTH の分泌を促進することに基づくのではないかと推察される。

脳下垂体からの ACTH 分泌は、視床下部からの corticotropin releasing factor により促進され、副腎からの glucocorticoid により抑制される¹²⁾ ことが知られている。そこで、小柴胡湯による脳下垂体からの ACTH の分泌促進が、corticosterone レベルを上昇させるか否かについて検討してみた。脳下垂体の ACTH 分泌に抑制的に作用する dexamethasone で処理し、ACTH 分泌を抑制した状態にしておいた場合、小柴胡湯による血中 corticosterone レベルの上昇も副腎や脳下垂体の c-AMP レベルの上昇も抑制された。また、*in vitro* 実験で副腎切片からの corticosterone 分泌に小柴胡湯は何ら影響しなかった。これらのことは、小柴胡湯が副腎に直接的に作用するのではなく、脳下垂体の c-AMP レベルを高め、ACTH 分泌を促進し、次いで corticosterone の分泌をも促進することを推定させる。

それでは、小柴胡湯はどのようにして ACTH 分泌を高めるのであろうか。ここで、副腎摘出ラットを用いる実験を行った。副腎摘出により内因性 corticosterone による ACTH 分泌の抑制が解除され、血漿 ACTH レベルの上昇することが報告されている。¹⁹⁾ 本研究でもラットの副腎摘出により血漿 ACTH レベルが上昇した。この副腎摘出ラットではエーテル吸入などのストレスにより高位中枢を刺激した場合、一層の ACTH レベル上昇が認められることが報告されているが、小柴胡湯を投与しても ACTH レベルの上昇は認められなかった。したがって、小柴胡湯の ACTH 分泌促進作用は、高位中枢への作用というよりは視床下部あるいは脳下垂体への作用によるものと考えられる。

一方、副腎摘出ラットに corticosterone を投与し、血中 corticosterone レベルを正常に維持した場合、小柴胡湯による血漿 ACTH レベルの上昇がみられた。このことは、小柴胡湯の ACTH 分泌促進作用が血中 corticosterone レベルの変動に影響されることを示唆している。したがって、小柴胡湯は脳下垂体からの ACTH 分泌に対する corticosterone の抑制作用を解除し、ACTH 分泌を促進すると推察された。

以上の結果から、小柴胡湯の抗炎症作用の機序として副腎-脳下垂体系の関与が明らかとなったが、一方では、著者らの従前の研究¹⁾ で炎症過程に直接影響を及ぼす作用系のあることも推察している。

起炎物質がラットの足蹠に適用された場合、その刺激により chemical mediator が遊離し、局部に炎症反応を惹起する。すなわち、血管透過性の亢進、白血球の増加と遊走、肥満細胞からの histamine 遊離などがみられる。Carrageenin 胸膜炎ラットにおいて胸腔中への滲出液の増加や白血球数の増加は、小柴胡湯により著明に抑制された。すなわち、血管透過性や白血球の遊走が小柴胡湯により抑制されることが明らかにされたが、dexamethasone も同様な作用を示したことより、この小柴胡湯の作用は血中 corticosterone レベルの上昇に基づくものかもしれない。しかし、*in vitro* で小柴胡湯が多核白血球の遊走や肥満細胞からの histamine 遊離を抑制する結果が得られ、このことから小柴胡湯は脳下垂体-副腎系を介さず、直接炎症過程を抑制する作用をも有することが示唆された。

また、小柴胡湯の構成生薬のうち柴胡、黄芩、甘草に histamine 遊離抑制作用のあることが認められた。一般に、肥満細胞からの histamine の遊離は、肥満細胞内の c-AMP の上昇^{20, 21)} とか lipoyxygenase 阻害²²⁾ により抑制されることが知られている。そして、柴胡は phosphodiesterase を阻害し、²³⁾ 黄芩の baicalin は lipoyxygenase を阻害²⁴⁾ するとの報告もある。したがって、柴胡や黄芩の作用には、c-AMP レベルの上昇とか leucotrien の合

成阻害などが一部関与しているかもしれない。

以上、小柴胡湯は、炎症部位への直接的な作用のほか、corticosterone の ACTH 分泌への抑制機構を解除することにより脳下垂体-副腎系の活性化をもたらすことが、ラットの足蹠浮腫に対する抗炎症効果を発揮する機序と考えられる。

引用文献および注

- 1) 第4報: 加藤正秀, 丸本正彦, 林 真知子, 前田利男, 林 栄一, 薬誌, **104**, 509 (1984).
- 2) 日本薬学会第103年年会, 東京, 1983年4月にて発表.
- 3) N. Zenker, D. E. Bernstein, *J. Biol. Chem.*, **231**, 695 (1958).
- 4) J. C. Buckingham, J. R. Hodges, *J. Endocr.*, **63**, 213 (1974).
- 5) R. H. Silber, R. Busch, R. Oalapas, *Clin. Chem.*, **4**, 278 (1958).
- 6) J. V. Hurley, G. B. Ryan, A. Friedman, *J. Pathol.*, **91**, 575 (1966).
- 7) P. W. Reed, J. Tepperman, *Am. J. Physiol.*, **216**, 223 (1969).
- 8) S. Boyden, *J. Exp. Med.*, **115**, 453 (1962).
- 9) E. S. Maroni, D. N. K. Symon, P. C. Wilkinson, *J. Reprod. Fert.*, **28**, 359 (1972).
- 10) G. Atkinson, M. Ennis, F. L. Pearce, *Br. J. Pharmac.*, **65**, 6395 (1979).
- 11) A. H. Anton, D. H. Sayre, *J. Pharmac. Exp. Ther.*, **166**, 285 (1969).
- 12) R. C. Haynes, Jr., F. Murad, "The Pharmacological Basis of Therapeutics," ed. by A. G. Gilman, L. S. Goodman, A. Gilman, Machillan Publishing Co., Inc., New York, 1980, p. 1466.
- 13) S. Hiai, H. Yokoyama, T. Nagasawa, H. Oura, *Chem. Pharma. Bull.*, **29**, 495 (1981).
- 14) 日合 奨, 横山弘臣, 長沢哲郎, 大浦彦吉, 日本内分泌, **26**, 661 (1979).
- 15) R. J. Bell, G. Sayers, *Arch. Biochem. Biophys.*, **148**, 70 (1972).
- 16) G. B. Sala, K. Hayashi, K. J. Catt, M. L. Dufau, *J. Biol. Chem.*, **254**, 3861 (1979).
- 17) F. Labra, R. Veilleux, G. Lefebvre, D. H. Coy, J. Sueiras-Diaz, A. V. Schally, *Science*, **216**, 1007 (1982).
- 18) V. Giguere, F. Labrie, J. Cote, D. H. Coy, J. Sueiras-Diaz, A. V. Schally, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **79**, 3466 (1982).
- 19) J. C. Buckingham, *J. Physiol.*, **286**, 331 (1979).
- 20) T. J. Sullivan, K. L. Parker, S. A. Eisen, C. W. Parker, *J. Immunol.*, **114**, 1480 (1975).
- 21) S. T. Holgate, R. A. Lewis, J. F. Maguire, L. J. Roberts II, J. A. Oates, K. F. Auaten, *J. Immunol.*, **125**, 1367 (1980).
- 22) E. F. Nemeth, W. Douglas, *Eur. J. Pharmac.*, **79**, 315 (1982).
- 23) T. Nikaido, T. Ohmoto, H. Noguchi, T. Kinoshita, H. Saitoh, U. Sankawa, *Planta Medica*, **43**, 18 (1981).
- 24) 関谷敬三, 奥田拓道, 和漢薬シンポジウム記録 (第15回), **15**, 58 (1982).