ラット α -Naphthylisothiocyanate 肝障害に対する
メグスリノキカルの防護効果

中村 洋,^a 熊沢紀子,^a 太田節子,^a 藤田 孝^b

岩崎泰介,^b 篠田雅人^{*,a}

星薬科大学,^a 雪印乳業株式会社技術研究所^b

Protective Effects of the Fractions Extracted from the Callus of
Acer nikoense MAXIM. on α -Naphthylisothiocyanate
Induced Liver Injury

Hiroshi NAKAMURA,^a Noriko KUMAZAWA,^a Setsuko OHTA,^a
Takashi FUJITA,^b Taisuke IWASAKI^b and Masato SHINODA^{*,a}

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hoshi University,^a 2-4-41,
Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo, 142, Japan and Technical
Research Institute, Snow Brand Milk Products Co.,
Ltd.,^b 1-1-2, Minamidai, Kawagoe,
Saitama, 350, Japan

(Received July 17, 1991)

It has been reported that the methanol extract from the bark of *Acer nikoense* MAXIM. (AN) and the fractions separated from this extract showed the protection for liver injuries induced by carbontetrachloride (CCl_4) in rat. On the other hand, the evidence manifested that the fractions of the callus of young branches from AN were recognized to have protective effects on the CCl_4 -induced liver injuries in rat. In this study, the protective activities of the fractions extracted from the callus of AN were investigated on the α -naphthylisothiocyanate (ANIT)-induced liver injuries in rat.

The protectively active principles on the ANIT-induced liver injuries were found in the ether soluble fraction. The components of the protective effect were purified by repeated silica gel chromatographies. One of the protective substances in this fraction was identified to be β -sitosterol. The protective fractions on the ANIT-induced liver injuries showed the protective effects on ANIT-induced cholestasis, but did not show cholagogic effects.

Keywords—liver injury; liver protection; *Acer nikoense*; callus; α -naphthylisothiocyanate; cholestatis; cholagogic effect

メグスリノキ (*Acer nikoense* MAXIM.) 樹皮のメタノール (MeOH) エキス及びその分画物がラット四塩化炭素 (CCl_4) 肝障害防護効力を有することを著者らは認めており既に報告した。¹⁾ また、メグスリノキより誘導したカルスより得た分画物のラット CCl_4 肝障害に対する防護効力を検討し、メグスリノキカルスが CCl_4 肝障害防護活性成分を産生することを明らかにした。²⁾ 本報では、 CCl_4 によって誘発される肝障害とは血清生化学的及び機能的に異なる肝障害を誘起することで知られている³⁾ α -naphthylisothiocyanate (ANIT) を用いて、メグスリノキカルス分画物の防護効力の有無を検討した。また、ANIT によって誘発される胆汁うっ滞に対する防護効力と利胆効力についても併せて検討した。

実験方法

メグスリノキカサの誘導⁴⁾ 前報²⁾と同様に、栃木県産のメグスリノキの若い枝を適当な大きさに切断し、これを 70% エタノール溶液に 3 分間浸漬して殺菌処理を行った。次いで無菌水で 3 回洗浄後、切断した枝を剥皮し、5 mm 前後に輪切りして、 α -naphthaleneacetic acid 10^{-6} M と benzylaminopurine 10^{-5} M を添加した Murashige-Skoog 培地 (0.2% gerlite, pH 5.8—5.9) に移植し、26°C で、暗所にて 20 日間培養を行った。⁵⁾

メグスリノキカサの分画法 カサは凍結乾燥後、2745 g を MeOH 8.4 l で 3 h ずつ 5 回温浸し、抽出液を減圧下で濃縮乾固し、MeOH エキス (1448 g) を得た。このエキス (1273 g) に熱湯を加えて懸濁させ、Chart 1 に示すように冷後エーテル 2.2 l で 6 回、次にブタノール (BuOH) 2.2 l で 3 回抽出し、エーテル可溶部 (50.9 g) と BuOH 可溶部 (50.5 g) を得た。残りの BuOH 不溶部 (水層) は、約半量まで減圧濃縮した後、凍結乾燥し、褐色粉末 (1171.4 g) を得た。エーテル可溶部 (45.6 g) と BuOH 可溶部 (45.1 g) を各々シリカゲルクロマトグラフィー (ワコーゲル C 200, 75—150 μ m, 10.5×47 cm) に付し、CHCl₃-MeOH-H₂O 混液で溶出し、3 画分 (EF-1, 2, 3 及び BF-1, 2, 3) を得た。EF-1 は、シリカゲルクロマトグラフィー (イアトロビーズ 6RS-8060, 6.0×60 cm) に再度付し、CHCl₃-MeOH 混液で溶出させ、3 画分 (EF 1-1, 2, 3) に分けた。EF 1-2 は、シリカゲルクロマトグラフィー (ワコーゲル C200, 75—150 μ m, 6.0×55 cm) に付し、*n*-hexane-ether 混液で溶出した後に、CHCl₃-MeOH 混液で溶出し、3 画分 (EF 12-1, 2, 3) を得た。EF 12-2 は、シリカゲルクロマトグラフィー (イアトロビーズ 6RS-8060, 2.5×135 cm) に付し、CHCl₃ にて溶出し、3 画分 (EF 122-1, 2, 3) に分けた。

EF 122-2 成分の同定 EF 122-2 は、ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) 分析と薄層クロマトグラフィー (TLC) の結果より、主に β -sitosterol から成る画分 (微量の campesterol と stigmasterol を含む) であることが明らかとなった (Fig. 1)。

実験動物 埼玉実験動物供給所より購入した Wistar 系雄性ラット (生後 7 週齢、体重 180—200 g) を用いた。飼料 (オリエンタル酵母製、飼育用 MF 固形飼料) は自由に摂取させた。ただし、ANIT 投与前と採血前の各 24 h は飼料を与えなかった。飲料水は採血時まで自由に摂取させた。

ANIT 肝障害防護効力試験法 ANIT 肝障害ラットの作成——24 h 絶食させたラットにオリーブ油で溶解させた ANIT (Sigma 製) 75.0 mg/kg を 2 ml/kg の投与液量にて、1 回経口投与することにより作製した。

試料の調製及び投与方法——カサ分画物は精製水に溶解又は懸濁させ、0.4 N NaOH を加え pH 7 に補正した後、投与液量が 1.0—1.5 ml/200 g になるように調製し、各々 ANIT 投与 30 min 前に腹腔内投与した。投与量は溶解性及び収率を考慮して定めた。

採血及び血清成分の測定法——ANIT 投与 48 h 後にラットをエーテル麻酔下で開腹し、腹部大静脈から採血した。得られた血液は遠心分離 (3000 rpm, 10 min) して血清を分取し、血清成分の測定は、glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) と glutamate pyruvate transaminase (GPT) は Karmen 法,⁶⁾ alkaline phosphatase (ALP) は GSCC 法,⁷⁾ total-bilirubin (T-BIL) 及

Fig. 1. Thin-Layer Chromatograms of the Fractions from EF 12-2 Shown in Chart 1

Plate, HPTLC plate Silica gel 60F₂₅₄; solvent, CHCl₃-MeOH (20 : 0.25); detection, 10% H₂SO₄-heat.

a) β -sitosterol.

Chart 1. Fractionations of the Callus from *Acer nikoense* MAXIM.

び direct-bilirubin (D-BIL) は Jendrassik 法⁸⁾ により, それぞれ測定用試薬 (デンカ生研) を用い, 生化学自動分析装置 (TBA-380, 東芝メディカル) で測定した.

肝障害防護効力——肝障害防護効力は, 無処置群 (non-treated group), ANIT のみ投与した群 (ANIT group) 及びカルス分画物と ANIT を投与した群 (sample group) のそれぞれの血清成分の測定値の平均を次式に代入し, 算出した.

$$\text{防護効力 (\%)} = \frac{\text{ANIT group} - \text{sample group}}{\text{ANIT group} - \text{non-treated group}} \times 100$$

また, control group に対する sample group の各測定値の有意性を Student's *t*-test により検定した.

ANIT 胆汁うっ滞防護効力試験法 ANIT 胆汁うっ滞ラットの作製——ANIT 投与 24 h 後, ラットに 10% ウレタン (和光純薬製) 1.0 ml/kg を皮下投与して麻酔した. ラットの四肢を固定し, 腹壁正中線に沿って開腹し, ポリエチレンチューブ (0.9 mm, Igarashi Ika-Kogyo Co., Ltd.) を総胆管に挿入した. 手術の影響を除くため 30 min 経過観察の後, 胆汁採取を開始し, 120 min 間流出した胆汁を採取した. 採取した胆汁の容量はマイクロシリンジで測定し, 分泌胆汁量を肝重量 1 g 当たりに補正し, 1 min 当たりの胆汁流量 (bile flow rate, $\mu\text{l/g liver/min}$) として表した.

試料の調製及び投与方法——すべて ANIT 肝障害防護効力試験法の場合と同様に行った.

胆汁中の成分測定法——胆汁中の胆汁酸 (bile acid, B-A) は酵素法⁹⁾ (エンザバイル, 第一化学薬品), total-cholesterol (T-CHO) は酵素法¹⁰⁾ (デンカ生研), phospho-lipid (P-L) は酵素法¹¹⁾ (デンカ生研), T-BIL と D-BIL は Jendrassik 法⁸⁾ (デンカ生研) で, それぞれ生化学自動分析装置 (TBA-380, 東芝メディカル) を用いて測定した. ナトリウム (Na) とカリウム (K) は, 原子吸光光度計 (Hitachi, Z-8100) を用いて測定した. また胆汁中の各成分は濃度と分泌胆汁量から 1 min 当たりの排泄量を算出し, 無処置群の排泄量に対するカルス分画物と ANIT を投与した群の排泄量を胆汁成分排泄比率 (%) で表した.

利胆効力試験法 胆汁採取法及び流量測定法——胆汁採取は, ANIT 胆汁うっ滞防護効力試験法と同様の方法で総胆管にポリエチレンチューブを固定挿入し, 手術の影響を除くため 30 min 経過観察の後, 胆汁採取を開始し, カルス分画物投与後 120 min ごとに 2 回行った. 採取した胆汁の容量はマイクロシリンジで測定し, 分泌胆汁量を 30 min 当たりの胆汁流量として表した.

試料の調製及び投与方法——カルス分画物の調製は ANIT 肝障害防護効力試験法の場合と同様に行い, 胆汁採取開始 30 min 後に十二指腸に投与した. また, 対照群には生理食塩水を投与した.

利胆効力——利胆効力は, 個々のラットの試料投与後 0—120 min, 120—240 min における胆汁流量を 30 min 当たりに換算し, 試料投与前 30 min の胆汁流量と比較して変動率 (%) を算出し, さらに対照群に対する試料投与群の変動率の平均値の比で表した.

$$\text{利胆効力} = \frac{\text{試料投与群の胆汁流量の変動率}}{\text{対照群の胆汁流量の変動率}}$$

また, 対照群の胆汁流量の変動率に対する試料投与群の胆汁流量の変動率の差の有意性を Student's *t*-test にて検定した.

結

果

メグスリノキカルスの ANIT 肝障害防護効果

メグスリノキカルスの MeOH エキス及びその分画物であるエーテル可溶部, BuOH 可溶部, BuOH 不溶部の ANIT 肝障害に対する効果を Table I に示した. ANIT 投与により測定項目と

TABLE I. Protective Effects of the Extracted from the Callus of *Acer nikoense* MAXIM. on ANIT Induced Liver Injury in Rats

Sample	n	Dose (mg/kg)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	T-BIL (mg/dl)	D-BIL (mg/dl)
Non-treated	10	—	101± 9	22± 6	456± 66	0.26±0.03	0.13±0.03
Treated control (ANIT)	7	75	1558±457 ^{a)}	721±164 ^{a)}	1368±245 ^{a)}	7.34±1.75 ^{a)}	6.26±1.46 ^{a)}
MeOH ext.+ANIT	6	800	1553±524	700±168	1405±448	6.30±1.60	5.44±1.23
Ether sol.+ANIT	6	800	510±313 ^{c)}	275±275 ^{c)}	945±422 ^{b)}	2.11±2.55 ^{c)}	1.72±2.34 ^{c)}
	4	400	660±565	222±194 ^{c)}	594±231 ^{c)}	2.41±0.54 ^{c)}	2.00±0.48 ^{c)}
BuOH sol.+ANIT	6	800	1322±749	480±193	1279±338	4.67±2.22	3.90±1.55
	4	400	1015±102	595± 88	1482±156	6.24±1.05	5.31±0.81
BuOH insol.+ANIT	6	800	1632±406	668±195	1438±294	6.14±1.94	5.00±1.28
Ether sol. only	3	800	263± 64	34± 3	556±186	0.35±0.12	0.20±0.05

Each sample was intraperitoneally administered 30 min before ANIT (75 mg/kg, *p.o.*) treatment in rats.

a) Significantly different from nontreated at $p < 0.01$.

b, c) Significantly different from control ANIT at $p < 0.05$, $p < 0.01$.

TABLE II. Protective Effects of the Fractions Extracted from the Callus of *Acer nikoense* MAXIM. and β -Sitosterol on ANIT Induced Liver Injury in Rats

Sample	n	Dose (mg/kg) ^{a)}	Protective potency (%) ^{b)}				
			GOT	GPT	ALP	T-BIL	D-BIL
MeOH ext.	6	800	-37.4	3.0	- 4.1	14.7	13.4
Ether sol.	6	800	61.3 ^{d)}	63.8 ^{d)}	47.1 ^{c)}	74.1 ^{d)}	73.9 ^{d)}
	4	400	47.1	71.4 ^{d)}	86.1 ^{d)}	69.8 ^{c)}	69.3 ^{c)}
BuOH sol.	6	800	-15.4	34.5 ^{c)}	9.9	37.8 ^{c)}	38.4 ^{c)}
	4	400	-13.5	18.0	-12.8	15.5	15.5
BuOH insol.	6	800	-44.8	7.6	- 7.8	17.0	20.5
EF-1	4	50	71.4 ^{c)}	82.7 ^{d)}	80.0 ^{d)}	93.8 ^{d)}	94.8 ^{d)}
EF-2	4	50	36.7	47.4	5.4	- 7.8	- 6.4
EF-3	4	50	10.0	18.9	24.9	2.8	2.5
BF-1	4	200	12.1	25.6	- 0.4	5.4	8.0
BF-2	4	200	-32.7	9.2	-12.3	-13.7	-16.7
BF-3	4	200	- 4.8	14.0	9.6	19.2	18.9
EF1-1	4	20	20.2	29.1 ^{c)}	-10.9	- 5.5	- 2.2
EF1-2	4	40	58.8 ^{c)}	69.6 ^{d)}	92.9 ^{c)}	89.2 ^{d)}	88.3 ^{d)}
EF1-3	4	40	18.3	18.9	10.9	38.1	49.4
EF12-1	4	20	-29.2	10.9	4.2	-80.0	-68.6
EF12-2	4	20	18.5	60.3 ^{d)}	81.7 ^{d)}	86.2 ^{d)}	88.2 ^{d)}
EF12-3	4	20	- 0.3	21.3	23.1	-67.2	-53.3
EF122-1	4	5	16.6	28.8	8.3	22.6	21.7
EF122-2	4	15	25.1	42.8 ^{d)}	18.5	42.4 ^{c)}	40.8 ^{c)}
EF122-3	4	5	36.5	48.7 ^{d)}	37.9 ^{c)}	20.0	16.6
EF12-2 reconsisted	4	20	14.0	56.7 ^{d)}	19.6	62.0 ^{d)}	62.6 ^{d)}
β -Sitosterol	4	5	42.3	42.7 ^{c)}	3.1	32.6	31.9
	3	2	28.8	36.3	16.5	16.5	12.7

a) Each sample was intraperitoneally administered 30 min before ANIT (75 mg/kg, *p.o.*) treatment in rat.

b) Protective potency (%) = $\frac{(\text{control group}) - (\text{sample group})}{(\text{control group}) - (\text{non-treated group})} \times 100$

Significantly different from control group. c) $p < 0.05$, d) $p < 0.01$.

して用いたすべての血清成分は無処置群に比べ有意に上昇し、特に GPT, T-BIL, D-BIL 値はそれぞれ無処置群の約 35 倍, 約 25 倍, 約 40 倍と顕著な上昇を示した. ANIT 投与 30 min 前にメグスリノキカルの各分画物を腹腔内投与した結果, エーテル可溶部のみに有意な抑制効果が認められ, その他の画分は無効であった. また, 有効性を示したエーテル可溶部の単独投与は各血清測定項目において, ANIT を投与していない無処置群と同程度の値を示したことから, エーテル可溶部は測定した各血清成分に直接影響を与えないことを確認した.

有効であったエーテル可溶部については, さらに分画を進め, 各々の画分の防護効力を Table II に示した. また, 前報²⁾で CCl₄ 肝障害に対して防護効果を示した BuOH 可溶部の分画物についても併せて検討した.

エーテル可溶部の分画物のうち, EF-1 及びこれをシリカゲルクロマトグラフィーによって分画した EF 1-2, EF 12-2 に高い防護効力が認められ, 胆管系障害時の主な指標となる ALP, BIL においては共に 80% 以上の強い効力を示した. しかし, EF 12-2 の分画をさらに分画して得た 122-1, 2, 3 の 3 画分には効力の減退が認められ, 有効成分の分散傾向がみられた. この 3 画分を収率比から混合し再構成した EF 12-2 reconsisted の効力は EF 12-2 よりも弱くなるが有意な効果を示した. 一方, EF 122-2 に移行した成分のうち大部分は, β -sitosterol であることが同定され, 標品についても効力を検討した結果, 5 mg/kg で EF 122-2 と同程度の効力を認めた.

ANIT 投与による胆汁流量の変動及びメグスリノキカルの ANIT 胆汁うっ滞に対する防護効果

ANIT 投与による胆汁流量の減少及び ANIT 胆汁うっ滞に対するメグスリノキカル分画物の効力を検討し, 結果を Fig. 2 に示した. 無処置群では胆汁流量が 0.93 μ l/g liver/min であるのに

Fig. 2. Effects of the Fractions Extracted from the Callus of *Acer nikoense* MAXIM. on ANIT Induced Cholestasis

Each sample was intraperitoneally administered 30 min before ANIT (75 mg/kg, p.o.) treatment in rat.

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

TABLE III. Effects on Biliary Components of the Fractions Extracted from the Callus of *Acer nikoense* MAXIM. ANIT Induced Cholestasis in Rats

Sample	n	Dose (mg/kg)	Rate of the excretion of sample group to non-treated group ^{a)}						
			B-A	T-CHO	P-L	T-BIL	D-BIL	Na	K
Ether sol.	6	800	29.1	55.7	42.9	59.7	85.5	69.3	55.5
	8	400	55.5	44.8	48.3	142.6	249.1	72.7	64.9
BuOH sol.	6	800	42.6	59.1	51.3	96.6	177.0	70.4	69.6
	4	400	54.5	44.8	48.7	133.6	240.1	97.1	69.9
EF-1	4	50	53.4	21.5	32.8	79.2	141.6	61.6	47.3
EF1-2	4	40	54.5	72.2	52.5	63.0	109.0	82.1	60.0
EF12-1	4	20	14.2	35.6	13.0	11.0	35.6	46.3	38.8
EF12-2	4	20	41.6	34.3	36.8	64.5	166.4	61.2	52.4

a) Percentage of the value of sample group to non-treated.

対して, ANIT 投与群では 0.20 μ l/g liver/min と明らかな胆汁流量の減少が認められた. また エーテル可溶部, BuOH 可溶部は ANIT による胆汁流量の減少を有意に防護した. しかし BuOH 可溶部の分画物はいずれの画分にも胆汁流量減少防護効力は認められなかったのに対し, エーテル可溶部の分画物は EF-1, EF 1-2, EF 12-1, 12-2 が胆汁流量の減少を有意に抑制した. また β -sitosterol は有意性を示さなかったが, 胆汁流量の減少を抑制する傾向が認められた.

分画物投与によって胆汁うっ滞が防護された時に得られた胆汁中の成分について無処置群と比較した結果を Table III に示した. ANIT 投与群は完全な胆汁うっ滞を起こすか, あるいは胆汁流量が極めて少なくなり, 胆汁成分測定に必要な量が得られないため, 各試料投与群の値は無処置群の胆汁成分を 100 とした時の比で示した. 各試料により ANIT の胆汁うっ滞が防護され, 流出した胆汁中の成分の B-A, T-CHO,

P-L は無処置群の約 50% に減少しているが, その他の成分は無処置群に近い含量が排出されていることが認められた. エーテル可溶部と BuOH 可溶部の T-BIL, D-BIL は無処置群の 1.4, 2.4 倍の増加が認められた. EF 12-1 のみ胆汁中の各成分含量が著しく低い値を示した.

メグスリノキカルスの利胆効果

メグスリノキカルスの分画物が正常ラットの胆汁分泌に対して及ぼす影響を検討し, Table IV に示した. 利胆効力は試料投与群と生理食塩水投与の対照群との各々の胆汁流量の比で示した. エーテル可溶部と BuOH 可溶部に有意な利胆効力が認められ, BuOH 可溶部は半量でも効果を示した. しかし, これらを分画した EF-1, 2, 3 と BF-1, 2, 3 は有意な作用は認められず, 効力が平均的に分散する傾向を示した.

TABLE IV. Cholagogic Effects of the Fractions Extracted from the Callus of *Acer nikoense* MAXIM. in Rats

Sample	n	Dose (mg/kg)	Cholagogic effect ^{a)}	
			0—120	120—240
H ₂ O ext.	4	800	0.90	0.99
MeOH ext.	3	800	0.97	1.18
Ether sol.	3	800	1.50	1.44 ^{c)}
	3	400	1.22	1.20
BuOH sol.	3	800	1.31 ^{c)}	1.67 ^{c)}
	3	400	1.21	1.45 ^{b)}
BuOH insol.	3	800	1.01	0.96
EF-1	3	50	1.00	0.88
EF-2	3	50	1.05	1.09
EF-3	3	50	0.83	0.74
BF-1	3	200	1.23	1.30
BF-2	3	200	1.28	1.33
BF-3	3	200	1.13	1.21

a) Cholagogic effect was measured the ratio sample treatment group to saline treatment group. Significantly different from saline treatment group. b) $p < 0.05$, c) $p < 0.01$.

考 察

肝毒性物質は、 CCl_4 のように直接肝細胞を障害し肝障害を誘発する物質と、 C_{17} -アルキル化ステロイドや ANIT のように特定の代謝系や胆汁分泌機構を障害することにより間接的に肝障害を誘発する物質に分類される。¹²⁾ 本報では間接的障害に属する ANIT を肝障害誘発物質として使用した。

血清成分の変動を指標としてラット ANIT 肝障害に対するメグスリノキカルスの防護効力を検討した結果、エーテル可溶部から得られた EF-1 及びその分画物に防護効力を認めた。著者らは本報に用いたカルスの MeOH エキス及びその分画物について CCl_4 肝障害に対する効果も検討しているが、 CCl_4 肝障害に対してはエーテル可溶部から得られた EF-3 及びその分画物に有効性を認めている。²⁾ このことよりメグスリノキカルスには ANIT 肝障害と CCl_4 肝障害のそれぞれに有効な異なる成分が存在することが示唆された。メグスリノキが ANIT 肝障害防護効力を有することは過去に報告されていないが、カルス分画物が示した結果より、メグスリノキの ANIT 肝障害に対する有効性が期待される。本報において有効性が認められた EF 12-2 は、さらに分画を進めると防護効力の低下を示したが、EF 12-2 reconstituted に EF 12-2 より効力は弱くなるものの数種の測定項目に有意な効力を認めたことから、分画によって EF 12-2 中の効力成分が分散してしまうことが示唆された。再構成した画分が分画前と同程度の効力を示さなかったのは、EF 12-2 を分画する際用いたシリカゲルクロマトに微量成分が吸着された可能性も考えられる。また、EF 122-2 画分として得た β -sitosterol が EF 122-2 と同程度の効力を示したことより、 β -sitosterol は、EF 12-2 に存在する有効成分の 1 つであると推察される。

ANIT は、胆管周囲の炎症細胞浸潤や胆管上皮細胞の壊死、脱落などの組織障害を惹起し、胆汁うっ滞を経て胆汁に排泄されるべき成分の血中への逆流が起こると考えられている。¹³⁾ 本報において胆汁流量を指標に各分画物の ANIT 胆汁うっ滞に対する効果についても検討した。また、胆汁排泄を促進する作用すなわち利胆作用と胆汁うっ滞改善作用は関連性が深いと考え、利胆作用の検討も併せて行った。分画物のうち BuOH 可溶部は血清成分を指標とする ANIT 肝障害には有効性を示さなかったが、ANIT による胆汁うっ滞に対しては有効であった。またこの画分は利胆効果も認められたことより、利胆作用を有することにより ANIT 胆汁うっ滞を防護した可能性が高いと考えられる。一方、エーテル可溶部及びその分画物のうち血清成分を指標とした ANIT 肝障害に強い防護作用を示した EF-1, EF 1-2, EF 12-2 は ANIT 胆汁うっ滞に対しても強い効力を示し、この時の胆汁中の成分含量も正常群に近かった。一方、これらの画分には利胆作用は認められなかったことより、エーテル可溶部中の有効成分の肝障害防護作用の機構は、ANIT 投与により誘起された胆汁酸依存性の分泌障害に対して肝細胞中の抱合などの排泄経路を介する機構が効力発現に関与することが示唆された。また EF 12-1 は ANIT 胆汁うっ滞に効力を示したが、この時の胆汁は胆汁酸などの各成分含量が著しく低い値を示し、血清成分を指標とした時の ANIT 肝障害に対しても防護効力が認められなかったことから、EF 12-1 は肝細胞膜の水分透過性に変化を与え、胆汁酸非依存性胆汁の分泌を促したと推察される。

引 用 文 献

- 1) 篠田雅人, 太田節子, 熊坂昌子, 藤田正雄, 永井正博, 井上隆夫, 生薬, **40**, 177 (1986).
- 2) 中村 洋, 熊沢紀子, 太田節子, 藤田 孝, 岩崎泰介, 篠田雅人, 薬誌, **111**, 585 (1991).
- 3) 福本陽平, 肝臓, **19**, 647 (1978).
- 4) 藤田 孝, 畑本 均, 高藤慎一, 中里溥志, 第 11 回植物組織培養学会大会講演要旨集, 1989, p. 129.

- 5) 竹内正幸, 中島哲夫, 古谷 力編, “植物の組織培養の技術,” 朝倉書店, 東京, 1983, p. 6.
- 6) A. Karmen, F. Wroblevski, J. S. Ladue, *J. Clin. Invest.*, **34**, 131 (1955).
- 7) W. Thefeld, H. Hoffmeiser, E. W. Busch, P. U. Koller, J. Vollmar, *Deut. Med. Wochenschr.*, **99**, 343 (1974).
- 8) L. Jendrassik, R. A. Cleghorn, *Biochem. Z.*, **289**, 1 (1936).
- 9) 眞重文子, 山中 学, 臨床化学, **8**, 191 (1979).
- 10) 正路喜代美, 衛生検査, **24**, 461 (1975).
- 11) 野間昭夫, 臨床検査, **22**, 1314 (1978).
- 12) H. J. Zimmerman, Hepatotoxicity, “Adverse effects of drugs and other chemicals on the liver,” Appleton-Century-Crofts, N.Y., 1978.
- 13) M. Eliakinn, M. Eisner, H. Unger, *Bull. Res. Cytochem.*, **7**, 1253 (1959).