

麻黄配剂漢方方剤の Dinitrofluorobenzene 誘発 3 相性皮膚反応抑制作用

久保 道德,^{a,b)} 西村 幸容,^{a)} 松田 秀秋,^{a)} 中尾紀久世,^{b)} 田原 英一,^{b)} 新谷 卓弘^{b)}

^{a)}近畿大学薬学部薬用資源学研究室, ^{b)}近畿大学東洋医学研究所

Study on anti-allergic effects of Kampo medicines containing Ephedrae Herba on dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced triphasic skin reaction

Michinori KUBO,^{a,b)} Sachiyo NISHIMURA,^{a)} Hideaki MATSUDA,^{a)} Kikuyo NAKAO,^{b)} Eiichi TAHARA^{b)} and Takahiro SHINTANI^{b)}

^{a)}Natural Drug Resources, School of Pharmaceutical Sciences, Kinki University, 3-4-1, Kowakae, Higashiosaka, Osaka, 577-8502, Japan. ^{b)}Research Institute of Oriental Medicine, Kinki University, 377-2, Ohmohigashi, Osakasayama, Osaka, 589-8511, Japan.

(Received March 15, 2004, Accepted May 21, 2004.)

Anti-allergic effects of 9 Kampo medicines containing Ephedrae Herba on dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced triphasic skin reaction were investigated. In the animal model, it was found that Kakkon-To, Sho-Sei-Ryu-To, Shimpi-To and Mao-Bushi-Saishin-To inhibited the ear swelling of IPR (immediate phase response), LPR (late phase response) and vLPR (very late phase response). Eppi-Ka-Jutsu-To, Dai-Sei-Ryu-To and Keishi-Syakuyaku-Chimo-To inhibited the swelling of IPR and LPR. Mao-To and Ma-Kyo-Kan-Seki-To showed the inhibitory effect on IPR only. The water extract from Ephedrae Herba inhibited the triphasic skin reaction, but the water extract from the mixture of Ephedra Herba and Armeniacae Semen did not.

These findings indicate that Kakkon-To, Sho-Sei-Ryu-To, Shimpi-To and Mao-Bushi-Saishin-To are useful for the inhibition of cutaneous inflammatory diseases, and that the inhibitory effect is partly attributable to Ephedra Herba. Also, it was suggested that Armeniacae Semen plays some important role on the occurrence of efficacy of Ephedra Herba.

Key words Anti-allergic effect, Kampo medicine, triphasic skin reaction, Ephedra Herba.

Abbreviations DNFB, dinitrofluorobenzene; IPR, immediate phase response; LPR, late phase response; vLPR, very late phase response.

緒 言

アトピー性皮膚炎は急性と慢性の皮膚炎から成り立ち、即時相と遅発相からなる I 型のアレルギー反応と密接な関係にある一方、IV 型のアレルギー反応の関与も指摘されている。特にその重症化あるいは慢性化因子の遅発相反応を抑制することが重要であると報告¹⁾されている。Watanabe ら¹⁾は DNP-OVA で感作したマウスの耳介に DNFB を再塗布すると、ヒトのアトピー性皮膚炎の発生機序に類似した IgE 抗体依存性の即時型反応（反応惹起 1 時間後、IPR）と遅発型反応（反応惹起 24 時間後、LPR）からなる 2 相性の浮腫が惹起されることを見出している。また、IPR においては DNFB を塗布した部位を引っ掻く行動が認められると報告している¹⁾。Tahara ら²⁾はこれら 2 相性の皮膚反応に引き続いて 8 日後に、持続的で且つ顕著な好酸球の浸潤を伴う 3 相目の皮膚反応（vLPR）が誘発されることを見出している。好酸球の浸潤はアトピー性皮膚炎罹患患者によく見られる病理組織像で、その浸潤度と皮疹の程度がよく相関することから、

DNFB 誘発 3 相性皮膚反応試験における vLPR はヒトのアトピー性皮膚炎に最も類似したモデルとされている。

このモデルを用いて、既にアトピー性皮膚炎に有効な漢薬や漢方方剤の探索研究が行われ、アレルギー性疾患に適用されている小青竜湯、小柴胡湯および白虎加人参湯など、駆瘀血方剤の桃核承気湯などに有効性が認められている³⁾。また、桃核承気湯に配合される甘草、桂皮が vLPR の浮腫にも有効であると報告されている³⁾。

以上のごとく、多くの漢方方剤に抗アレルギー作用が報告されているが、それらを大別すると、呼吸器系疾患（気管支喘息、アレルギー性鼻炎など）と皮膚疾患（蕁麻疹、接触性皮膚炎）を治療目標とされ、呼吸器系疾患には、いわゆる麻黄剤と称される麻黄が配剤されている漢方方剤が汎用されて

いる。麻黄剤のアレルギー炎症反応に対する薬理学的研究としては、麻黄附子細辛湯にケミカルメディエータ遊離抑制作用⁴⁻⁶⁾、抗炎症作用⁷⁾、抗侵害受容作用⁸⁾、小青竜湯に抗 I 型アレルギー作用（PCA 反応抑制^{9,10)}）、皮膚反応および鼻炎に対する抑制作用^{11,12)}など、葛根湯に抗 III, IV 型アレルギー

*To whom correspondence should be addressed. e-mail : kubo@phar.kindai.ac.jp

作用¹³⁻¹⁵⁾など、さらに越婢加朮湯には接触性皮膚炎抑制作用¹⁶⁾などが報告されている。また麻黄についても呼吸器系疾患モデルにおける抗アレルギー作用¹⁷⁾、抗炎症作用¹⁸⁾、SOD様作用¹⁹⁾に関する報告がある。しかし、皮膚疾患モデルに対する報告は少ない。

そこで本報では、麻黄および麻黄配剂漢方方剤9種のアレルギー性皮膚疾患への応用を目指し、それらの抗アレルギー作用をDNFB誘発3相性皮膚反応試験を用いて検討した。

材料と方法

1. 実験材料

実験材料には枋本天海堂より購入した大阪市場品の麻黄、

半夏、甘草、桂皮、五味子、細辛、芍薬、乾姜、杏仁、石膏、生姜、大棗、葛根、厚朴、陳皮、柴胡、蘇葉、炮附子、蒼朮、知母、防風、白朮を用いた。なお、麻黄は束の形状で購入し、去節した後、約0.5 cmの長さに細切して用いた。杏仁は皮・尖付きのものを購入し、約60℃の水に30分間温浸後、皮去し、尖を除去したものを用いた。

2. 被検体の調製

1) 9種麻黄配剂漢方方剤の熱水抽出エキスの作成：麻黄配剂漢方方剤9種はTable 1に示した配合比で、カットした生薬を混合し、その10倍量の水で1時間1回熱時抽出し、熱時ろ過した。ろ液を凍結乾燥し、得た熱水抽出エキスを被検体に供した。各方剤のエキス収率はTable 1に示した。

Table 1 Kampo Medicines Used in This Study and Their Constituents

Formulation	Constituent (Japanese name) (number; ratio of preparing the formulation)	Botanical origin	Yield (%) of extract
Sho-Sei-Ryu-To (小青竜湯)	Pinelliae Tuber (Hange; 半夏) (6)	<i>Pinellia ternata</i> BREIT.	20.2
	Glycyrrhizae Radix (Kanzo; 甘草) (3)	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISHER	
	Cinnamomi Cortex (Keihi; 桂皮) (3)	<i>Cinnamomum cassia</i> BLUME	
	Schisandrae fructus (Gomishi; 五味子) (3)	<i>Schisandra chinensis</i> BAILLON	
	Asiasari Radix (Saishin; 細辛) (3)	<i>Asiasarum sieboldii</i> F. MAEKAWA	
	Paeoniae Radix (Syakuyaku; 芍薬) (3)	<i>Paeonia lactiflora</i> PALLAS	
	Ephedrae Herba (Mao; 麻黄) (3)	<i>Ephedra sinica</i> STAPF	
	Zingiberis Rhizoma (Kankyo; 乾姜) (3)	<i>Zingiber officinale</i> ROSCOE	
Dai-Sei-Ryu-To (大青竜湯)	Ephedrae Herba (Mao; 麻黄) (6)	<i>Ephedra sinica</i> STAPF	17.3
	Cinnamomi Cortex (Keihi; 桂皮) (2)	<i>Cinnamomum cassia</i> BLUME	
	Armeniacae Semen (Kyonin; 杏仁) (5)	<i>Prunus armeniaca</i> L.	
	Gypsum Fibrosum (Sekko; 石膏) (10)	CaSO ₄ · H ₂ O	
	Glycyrrhizae Radix (Kanzo; 甘草) (2)	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISHER	
	Zingiberis Rhizoma (Shokyo; 生姜) (3)	<i>Zingiber officinale</i> ROSCOE	
	Zizyphi Fructus (Taiso; 大棗) (3)	<i>Zizyphus jujuba</i> MILLER	
Kakkon-To (葛根湯)	Puerariae Radix (Kakkon; 葛根) (4)	<i>Pueraria lobata</i> OHWI	24.4
	Zizyphi Fructus (Taiso; 大棗) (3)	<i>Zizyphus jujuba</i> MILLER	
	Ephedrae Herba (Mao; 麻黄) (3)	<i>Ephedra sinica</i> STAPF	
	Glycyrrhizae Radix (Kanzo; 甘草) (2)	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISHER	
	Cinnamomi Cortex (Keihi; 桂皮) (2)	<i>Cinnamomum cassia</i> BLUME	
	Paeoniae Radix (Syakuyaku; 芍薬) (2)	<i>Paeonia lactiflor</i> PALLAS	
	Zingiberis Rhizoma (Shokyo; 生姜) (2)	<i>Zingiber officinale</i> ROSCOE	
Mao-To (麻黄湯)	Armeniacae Semen (Kyonin; 杏仁) (5)	<i>Prunus armeniaca</i> L.	12.9
	Ephedrae Herba (Mao; 麻黄) (5)	<i>Ephedra sinica</i> STAPF	
	Cinnamomi Cortex (Keihi; 桂皮) (4)	<i>Cinnamomum cassia</i> BLUME	
	Glycyrrhizae Radix (Kanzo; 甘草) (1.5)	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISHER	
Ma-Kyo-Kan-Seki-To (麻杏甘石湯)	Gypsum Fibrosum (Sekko; 石膏) (10)	CaSO ₄ · H ₂ O	10.3
	Armeniacae Semen (Kyonin; 杏仁) (4)	<i>Prunus armeniaca</i> L.	
	Ephedrae Herba (Mao; 麻黄) (4)	<i>Ephedra sinica</i> STAPF	
	Glycyrrhizae Radix (Kanzo; 甘草) (2)	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISHER	
Shimpi-To (神秘湯)	Ephedrae Herba (Mao; 麻黄) (5)	<i>Ephedra sinica</i> STAPF	17.7
	Armeniacae Semen (Kyonin; 杏仁) (4)	<i>Prunus armeniaca</i> L.	
	Magnoliae Cortex (Koboku; 厚朴) (3)	<i>Magnolia obovata</i> THUNB.	
	Aurantii Nobilis Pericarpium (Chimpi; 陳皮) (2.5)	<i>Citrus unshiu</i> MARKOVICH	
	Glycyrrhizae Radix (Kanzo; 甘草) (2)	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISHER	
	Bupleuri Radix (Saiko; 柴胡) (2)	<i>Bupleurum falcatum</i> L.	
	Perillae Herba (Soyo; 蘇葉) (1.5)	<i>Perilla frutescens</i> BRITTON	

Mao-Bushi-Saishin-To (麻黄附子細辛湯)	Ephedrae Herba (Mao; 麻黄) (4)	<i>Ephedra sinica</i> STAPF	16.3
	Asiasari Radix (Saishin; 細辛) (3)	<i>Asiasarum sieboldii</i> F. MAEKAWA	
	Aconiti Tuber (Ho-Bushi; 炮附子) (1)	<i>Aconitum carmichaeli</i> DEBX.	
Eppi-Ka-Jutsu-To (越婢加朮湯)	Gypsum Fibrosum (Sekko; 石膏) (8)	CaSO ₄ · H ₂ O	23.8
	Ephedrae Herba (Mao; 麻黄) (6)	<i>Ephedra sinica</i> STAPF	
	Atractylodis Lanceae Rhizoma (Sojutsu; 蒼朮) (4)	<i>Atractylodes lancea</i> DC.	
	Zizyphi Fructus (Taiso; 大棗) (3)	<i>Zizyphus jujuba</i> MILLER	
	Glycyrrhizae Radix (Kanzo; 甘草) (2)	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISHER	
	Zingiberis Rhizoma (Shokyo; 生姜) (1)	<i>Zingiber officinale</i> ROSCOE	
Keishi-Syakuyaku-Chimo-To (桂枝芍薬知母湯)	Cinnamomi Cortex (Keihi; 桂皮) (4)	<i>Cinnamomum cassia</i> BLUME	28.8
	Anemarrhenae Rhizoma (Chimo; 知母) (4)	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> BUNGE	
	Saposhnikoviae Radix (Bofu; 防風) (4)	<i>Saposhnikovia divaricata</i> SCHISCHK.	
	Paeoniae Radix (Syakuyaku; 芍薬) (3)	<i>Paeonia lactiflora</i> PALLAS	
	Ephedrae Herba (Mao; 麻黄) (2)	<i>Ephedra sinica</i> STAPF	
	Zingiberis Rhizoma (Shokyo; 生姜) (5)	<i>Zingiber officinale</i> ROSCOE	
	Atractylodis Rhizoma (Byakujutsu; 白朮) (5)	<i>Atractylodes ovata</i> DE CANDOLLE	
	Glycyrrhizae Radix (Kanzo; 甘草) (2)	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISHER	
	Aconiti Tuber (Ho-Bushi; 炮附子) (2)	<i>Aconitum carmichaeli</i> DEBX.	

2) 麻黄湯去杏仁の熱水抽出エキスの作成: Table 1 に記した麻黄湯の構成生薬から杏仁を除いた麻黄湯去杏仁の熱水抽出エキス (Mao-To-Kyo-Kyonin) を 1) に記した方法で作成した。エキス収率は 14.0% であった。

3) 麻黄あるいは杏仁の単独あるいは混合熱水抽出エキスの作成: 麻黄および杏仁の単独あるいは混合 (生薬重量で 1 : 1) の熱水抽出エキスを 1) に記した方法で作成した。エキス収率は麻黄エキス (以下, EH-ext); 15.1%, 杏仁エキス (以下, AS-ext); 12.9%, 麻黄-杏仁エキス (EH-AS-ext); 13.2% であった。

3. 試薬

試薬には, 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid sodium salt (東京化成), 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene (DNFB), prednisolone, carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC · Na) (ナカライテスク), egg albumin (EWA, Grade V) (Sigma) を用いた。

4. 実験方法

1) 実験動物: 実験動物には Slc:ICR 系雌性マウス (20-22 g) を用いた。飼育環境は 12 時間明/12 時間暗のサイクルの動物飼育室で, 市販の固形飼料 (ラボ MR ストック, 日本農産) を用い, 自由に水を摂取させ, 購入後実験に供するまで 1 週間予備飼育を行い, 健康な動物を用いた。

2) DNFB 誘発 3 相性皮膚反応試験: i) ジニトロフェニル化卵白アルブミン (DNP-OVA) の調製: ジニトロフェニル化卵白アルブミン (DNP-OVA) は Eisen ら²⁰⁾ の方法に従って調製した。すなわち, egg albumin および K₂CO₃ 各 2g を 100 mL の水に溶解し, この溶液に dinitrobenzenesulfonic acid sodium salt 2g を加え, 遮光下 37°C にて 24 時間スターラーで攪拌した後, 得られた反応液を水で 2 日間透析後, その内液を凍結乾燥した。

ii) 3 相性皮膚反応試験: 2 相性の皮膚反応は Watanabe ら¹⁾ の方法に準じて行った。ICR 系雌性マウスに DNP-

OVA 10 μg と aluminum hydroxide gel 1 mg を含む生理食塩液 0.2 mL を腹腔内投与し感作した。その 1 週間後, 0.1 % DNFB/ EtOH 溶液を両耳介の表裏に 10 μL ずつ塗布した。翌日, 同様の方法を用いて再感作し, 1 週間後に反応を惹起させた。右耳介の厚さは反応惹起直前, 惹起 1 時間後 [即時型反応, immediate phase response (IPR)] および 24 時間後 [遅発型反応, late phase response (LPR)] に dial thickness gauge (Mitutoyo Co.) を用いて測定した。また, 反応惹起 8 日後 [超遅発型反応, very late phase response (vLPR)] にも右耳介の厚さを測定した。惹起直前の耳介の厚さを惹起 1 時間後, 24 時間後あるいは 8 日後のそれと比較し, 耳浮腫を算出した。なお, 被検体および prednisolone は 0.2% CMC · Na で懸濁し, 反応惹起 1 時間前および惹起 2 日後から 8 日後まで連日経口投与した。

3) 統計学的処理: 実験結果は平均値 ± 標準誤差で表し, 有意差検定には Bonferroni/Dunn の多重比較検定 (Multiple range test) を用いた。

結果および考察

1. 麻黄配剤漢方方剤 9 種の DNFB 誘発 3 相性皮膚反応抑制作用

1) 小青竜湯, 大青竜湯

麻黄配剤漢方方剤 9 種の中でアレルギー性鼻炎, 気管支炎や気管支喘息に汎用されている『傷寒論』収載方剤の小青竜湯および現在ではほとんど臨床応用されていない大青竜湯の 3 相性皮膚反応抑制作用を検討し, その結果を Fig. 1 に示した。DNFB をマウスに再度塗布すると, 3 相性の耳浮腫が惹起された。陽性対照薬に用いた prednisolone は 10 mg/kg の用量で, 3 相性皮膚反応を抑制した。小青竜湯は 3 相性の耳浮腫に抑制作用を示し, Yamada ら³⁾ の報告とほぼ同等の活性が得られた。大青竜湯は IPR および LPR を有意に抑

制した。vLPR には無効であった。小青竜湯に配剤されている生薬では、甘草と桂皮が3相性の炎症に有効で、芍薬は3相目の浮腫に有効と報告されている^{3, 21)}。小青竜湯と大青竜湯は麻黄、桂皮、甘草、生姜（あるいは乾姜）が共通して配剤され、小青竜湯には半夏、五味子、細辛、芍薬が、大青竜湯には杏仁、石膏、大棗が配剤されている。共通生薬として3相の炎症に有効性が報告されている甘草、桂皮がともに配剤されているにもかかわらず、大青竜湯がvLPRに有効でなかったことから、大青竜湯に配剤されている杏仁、石膏あるいは大棗が、甘草あるいは桂皮の抗アレルギー作用を減弱させている可能性が示唆される。

2) 葛根湯、麻黄湯

次に、風邪の初期に服用される葛根湯と麻黄湯の抗アレルギー作用を検討した。両方剤共に漢方医学的には、「太陽病」といわれる時期に服用される処方であり、葛根湯は『傷寒論』に

「項背強ばること几几、汗なく悪風するのは葛根湯を主る。」と記され、麻黄湯は「頭痛、発熱し、全身が疼痛し、腰痛もあり、関節が疼痛し、悪風し、汗が出ず、喘するの麻黄湯を主る。」と記されている。現在では、葛根湯は感冒の初期に服用され、麻黄湯は、発熱し、関節痛があり、咳が出るような場合に服用されている。葛根湯および麻黄湯の3相性皮膚反応に対する作用はFig. 1に示したごとく、葛根湯はいずれの炎症相にも有効性が認められ、麻黄湯はIPRに抑制作用を示した。

麻黄湯（麻黄、甘草、杏仁、桂皮）には3相の浮腫に有効な甘草と桂皮が配剤されているにもかかわらず、LPRおよびvLPRに無効であったことから、麻黄湯に配剤されている麻黄か、あるいは杏仁が甘草あるいは桂皮の抗アレルギー作用を減弱させている可能性が示唆された。

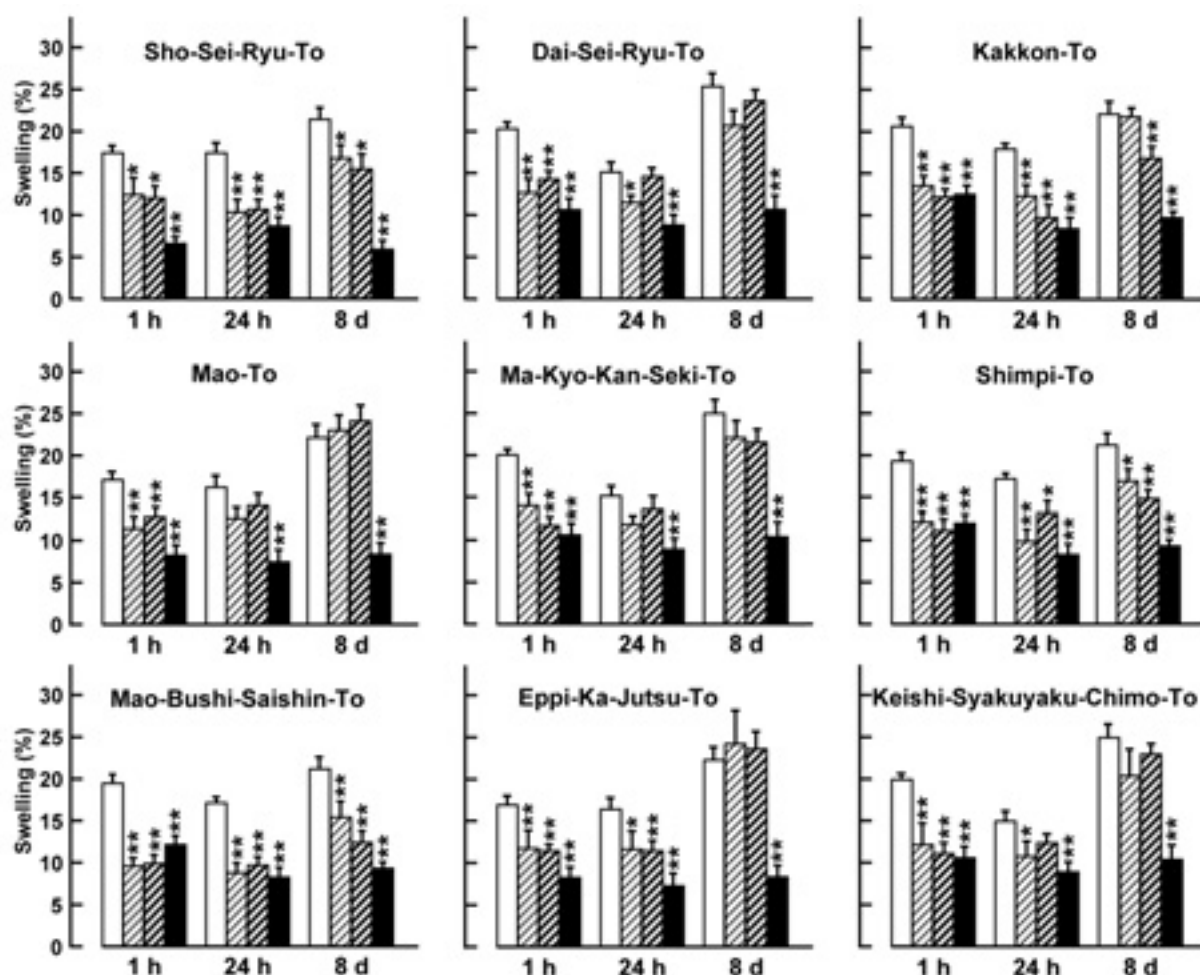


Fig. 1 Effects of Water Extract from Sho-Sei-Ryu-To (小青竜湯), Dai-Sei-Ryu-To (大青竜湯), Kakkon-To (葛根湯), Mao-To (麻黄湯), Ma-Kyo-Kan-Seki-To (麻杏甘石湯), Shimpi-To (神秘湯), Mao-Bushi-Saishin-To (麻黄附子細辛湯), Eppi-Ka-Jutsu-To (越婢加朮湯), Keishi-Syakuyaku-Chimo-To (桂枝芍薬知母湯) and Prednisolone on Ear Swelling after DNFB Challenge in Actively Sensitized Mice

□ : Control, ▨ : Kampo formulation 200 mg/kg, ■ : Kampo formulation 500 mg/kg, ■ : Prednisolone 10 mg/kg

Mice were immunized intraperitoneally (i.p.) with 10 µg DNP-OVA admixed with 1 mg of aluminum hydroxide gel 1 week before the DNFB challenge. Skin reaction was elicited by applying 0.1% DNFB in ethanol to the ear skin of the mice. The reaction to DNFB was evaluated by measuring ear thickness using a dial thickness gauge before the challenge and at appropriate intervals after. Each value represents the mean ear swelling (%) ± S.E. of 10-13 mice. Significantly different from control group at *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

3) 麻杏甘石湯, 神秘湯, 麻黄附子細辛湯

次に, 気管支炎や気管支喘息に用いられる麻杏甘石湯, 神秘湯および麻黄附子細辛湯の抗アレルギー作用を検討した。これら処方を使い分けは, 麻杏甘石湯は感冒の初期のように発熱し, 悪寒し, 咳の激しい場合の発汗, 解熱鎮痛剤として用いられ, 神秘湯は初期の激しい症状が緩解したあとの鎮痛剤として用いられ, 麻黄附子細辛湯は体力低下時の悪寒を伴う咳, 鼻つまり, 頭痛などに用いる。その結果は Fig. 1 に示したごとく, 神秘湯と麻黄附子細辛湯は 3 相性の皮膚反応に強い抑制作用を示した。麻杏甘石湯は IPR のみに抑制作用を示し, 本方剤においても甘草の 3 相性皮膚反応抑制作用が低下する結果が得られた。

4) 越婢加朮湯, 桂枝芍薬知母湯

『金匱要略』に記載されている越婢加朮湯および桂枝芍薬知母湯はリウマチ様疾患や関節痛などに用いられる。越婢加朮湯および桂枝芍薬知母湯の 3 相性皮膚反応に対する作用は Fig. 1 に示したごとく, 両者共に IPR, LPR に有効性を示し, vLPR には無効であった。近年, 越婢加朮湯は臨床的に比較的早期の湿疹や皮膚疾患に処方されており, 臨床的に使用されている時期と有効性を示した時期が一致していることから, この結果は臨床的效果を薬理的に裏付ける結果と思われる。

以上の結果から, 今回被検体に供した代表的な麻黄配剤漢方方剤 9 種のうち, 小青竜湯, 葛根湯, 神秘湯および麻黄附子細辛湯は IPR, LPR および vLPR を, 越婢加朮湯, 大青竜湯および桂枝芍薬知母湯は IPR と LPR を, 麻黄湯と麻杏甘石湯は IPR を抑制する作用を示した。

2. 麻黄の DNFB 誘発 3 相性皮膚反応抑制作用

今回被検体に供した麻黄配剤漢方方剤に配剤されている生薬については, 甘草と桂皮が 3 相の炎症に有効で, 芍薬は 3 相目の浮腫に有効と報告されている^{3, 21)}。しかし, 麻黄については 3 相性皮膚反応に対する報告がない。そこで, 麻黄単独の熱水抽出エキスの抗アレルギー作用を検討し, その結果を Fig. 2 に示した。麻黄単独の熱水抽出エキス (EH-ext) は 50, 200 mg/kg の用量 (p.o.) で, DNFB 誘発 3 相性皮膚反応による耳浮腫を有意に抑制した。

以上の結果から, 今回, 有効性の認められた麻黄配剤漢方方剤の抗アレルギー作用を担う生薬のひとつは麻黄であることが明らかになった。しかし, 麻黄湯は麻黄以外にも DNFB 誘発 3 相性皮膚反応に対して抑制作用が報告されている甘草, 桂皮^{3, 21)}が配剤されているにもかかわらず, LPR, vLPR に無効であり, また, 杏仁が配剤されている大青竜湯, 麻杏甘石湯においても vLPR に有効性が認められなかったことから, 杏仁が麻黄, 甘草あるいは桂皮の LPR および vLPR に対する抑制作用を減弱させている可能性が示唆された。

一方, 神秘湯には杏仁が配剤されているにもかかわらず, 3 相ともに抑制作用が認められたのは, 配剤生薬全量に対する杏仁の配剤量 (4 g/20 g; 20%) が麻黄湯のそれ (5 g/15.5 g; 32.3%) よりも少なく, 杏仁による減弱作用より抗アレルギー作用生薬の活性が上廻ったものと考えられる。さらに,

神秘湯には抗アレルギー作用が報告されている厚朴, 陳皮, 蘇葉も配剤されており, 3 相ともに抑制作用が認められたと思われる。

いずれにしても, 杏仁が麻黄湯に配剤される抗アレルギー生薬, 特に麻黄の活性に影響を及ぼしているのではないかと考え, 麻黄湯における杏仁の配剤意義について検討した。

3. 麻黄湯および麻黄湯去杏仁の DNFB 誘発 3 相性皮膚反応抑制作用

そこで, 麻黄湯から杏仁を除いた麻黄湯去杏仁エキスを調製し, 麻黄湯との DNFB 誘発 3 相性皮膚反応に対する抑制作用を比較検討した。その結果は Fig. 3 に示した。麻黄湯は IPR のみに有効性を示したが, 麻黄湯から杏仁を除いた麻黄湯去杏仁エキス (Mao-To-Kyo-Kyonin) には 3 相性の炎症を抑制する作用が認められた。

4. 麻黄と杏仁の併用による DNFB 誘発 3 相性皮膚反応抑制作用

上記の結果から, 杏仁が麻黄湯の抗アレルギー作用に何らかの影響を及ぼしていることが明らかになった。それは, 麻黄湯中の麻黄と杏仁を同時に抽出することによって, 麻黄の抗アレルギー作用成分の抽出効率が低下するのか, あるいは化学反応によって有効成分が変化しているのか, さらには生体内で麻黄の抗アレルギー作用成分と杏仁由来成分との薬理的拮抗作用により, 麻黄の抗アレルギー作用が減弱したと考えられる。

そこで, 麻黄と杏仁のそれぞれを等量混合して熱水で抽出したエキス (EH-AS-ext), 麻黄の熱水抽出エキス (EH-ext)

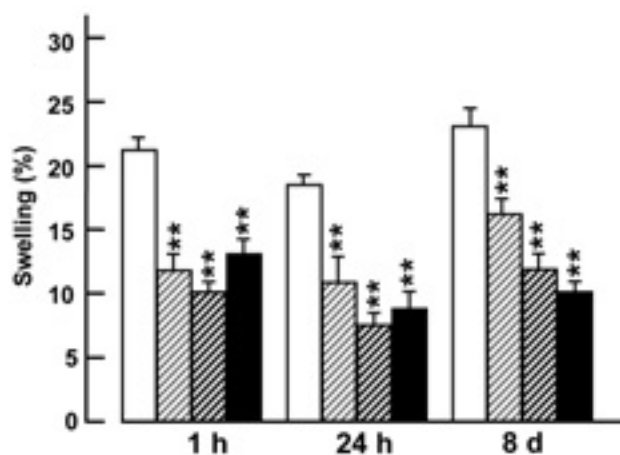


Fig. 2 Effects of Water Extracts from Ephedrae Herba (麻黄, EH-ext.) and Prednisolone on Ear Swelling after DNFB Challenge in Actively Sensitized Mice
 □: Control, ▨: Kampo formulation 200 mg/kg, ▩: Kampo formulation 500 mg/kg, ■: Prednisolone 10 mg/kg
 Mice were immunized intraperitoneally (i.p.) with 10 µg DNP-OVA admixed with 1 mg of aluminum hydroxide gel 1 week before the DNFB challenge. Skin reaction was elicited by applying 0.1% DNFB in ethanol to the ear skin of the mice. The reaction to DNFB was evaluated by measuring ear thickness using a dial thickness gauge before the challenge and at appropriate intervals after. Each value represents the mean ear swelling (%) ± S.E. of 10-13 mice. Significantly different from control group at *: $p<0.05$, **: $p<0.01$.

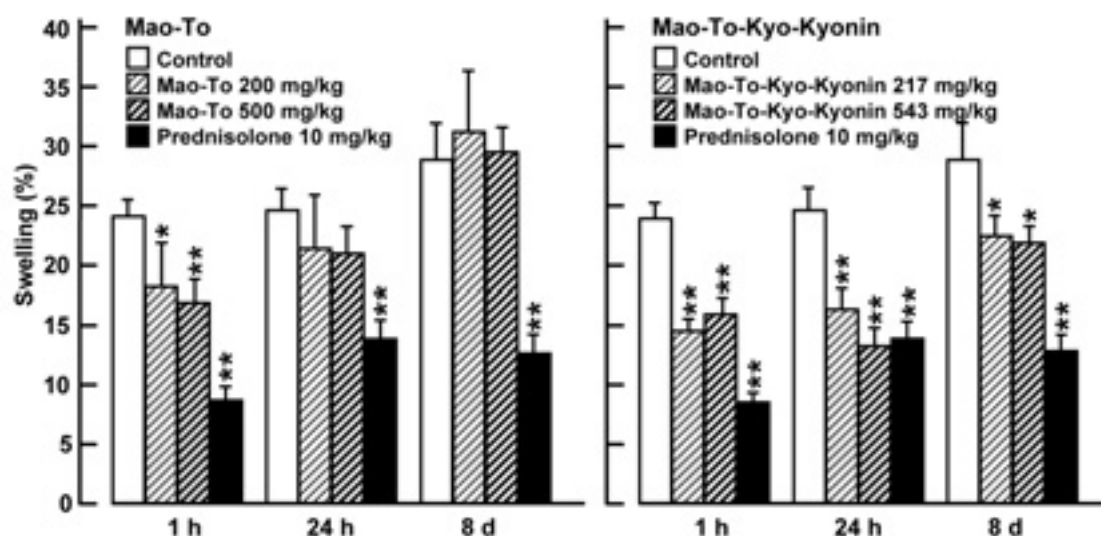


Fig. 3 Effects of Water Extracts from Mao-To (麻黄湯), Mao-To-Kyo-Kyonin (麻黄湯去杏仁; Mao-To without Armeniaca Semen (杏仁)) and Prednisolone on Ear Swelling after DNFB Challenge in Actively Sensitized Mice
Mice were immunized intraperitoneally (i.p.) with 10 µg DNP-OVA admixed with 1 mg of aluminum hydroxide gel 1 week before the DNFB challenge. Skin reaction was elicited by applying 0.1% DNFB in ethanol to the ear skin of the mice. The reaction to DNFB was evaluated by measuring ear thickness using a dial thickness gauge before the challenge and at appropriate intervals after. Each value represents the mean ear swelling (%) ± S.E. of 10-13 mice. Significantly different from control group at *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

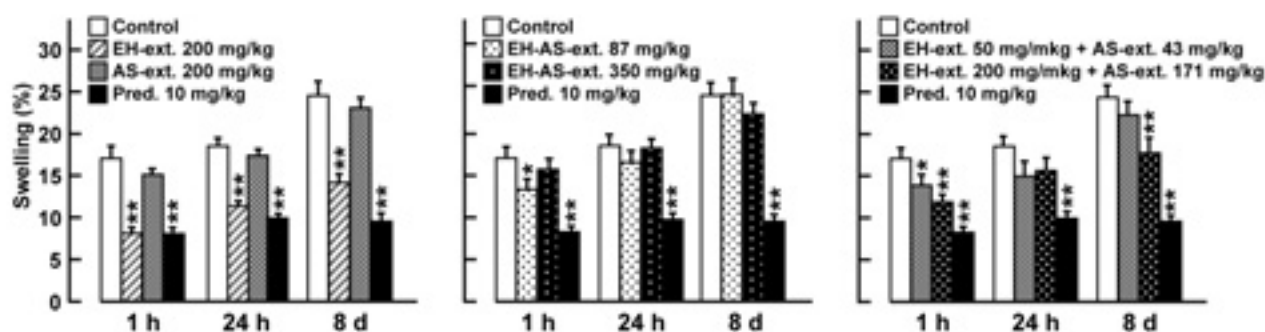


Fig. 4 Effects of Water Extracts from Ephedrae Herba (麻黄, EH-ext.) Armeniaca Semen (杏仁, AS-ext.) and Ephedrae Herba- Armeniaca Semen (EH-AS-ext.), Mixture of Water Extract from Ephedrae Herba and Armeniaca Semen, and Prednisolone on Ear Swelling after DNFB Challenge in Actively Sensitized Mice
Mice were immunized intraperitoneally (i.p.) with 10 µg DNP-OVA admixed with 1 mg of aluminum hydroxide gel 1 week before the DNFB challenge. Skin reaction was elicited by applying 0.1% DNFB in ethanol to the ear skin of the mice. The reaction to DNFB was evaluated by measuring ear thickness using a dial thickness gauge before the challenge and at appropriate intervals after. Each value represents the mean ear swelling (%) ± S.E. of 10-13 mice. Significantly different from control group at *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

と杏仁の熱水抽出エキス (AS-ext) を等量混合したエキス (EH-ext+AS-ext) および麻黄あるいは杏仁単独の熱水抽出エキスの DNFB 誘発 3 相性皮膚反応に及ぼす影響を検討した。その結果は Fig. 4 に示したごとく、麻黄エキス (EH-ext) 200 mg/kg は 3 相に有効性を示し、杏仁エキス (AS-ext) 200 mg/kg はいずれの浮腫に対しても無効であった。麻黄と杏仁の併用時の 3 相性皮膚反応に及ぼす影響については、生薬麻黄からのエキス収量を考慮に入れ、麻黄エキス (EH-ext) 200 mg/kg に相当する用量を求め、さらにその 1/4 量に相当する用量で行った。その結果は Fig. 4 に示したごとく、麻黄と杏仁を混合して抽出した EH-AS-ext においてはまったく抑制作用が認められなかった。それぞれを単独

で抽出した後に両エキスを混合したエキス (EH-ext+AS-ext) においては、3 相ともに抑制作用が認められたが、麻黄エキス単独の効果と比較すると弱かった。

以上から、麻黄配剂漢方方剤 9 種の抗アレルギー作用を検討した結果、葛根湯、小青竜湯、神秘湯、麻黄附子細辛湯に DNFB 誘発 3 相性皮膚反応を抑制する作用が認められた。また、配剤されている生薬の中から、麻黄がその薬効を担う一生薬であることも明らかになった。麻黄湯における杏仁の配剂意義を検討した結果、杏仁が麻黄の抗アレルギー作用を減弱させていることも明らかになった。麻黄の抗アレルギー作用を減弱させる杏仁の作用は漢方方剤を煎じる過程で強く起っているものと推測される。今後、麻黄の抗アレルギー作

用成分を明らかにするとともに、この成分と麻黄の抽出時に何らかの影響を及ぼす杏仁の成分を明らかにすることは、麻黄配剤漢方方剤の薬効を薬理学的に解明する上で、極めて重要な課題といえる。

References

- 1) Watanabe, C., Hase, K., Oku, T., Koizumi, F., Kadota, S., Nagai, H., Namba, T., Saiki, I.: Effect of Spikelets of *Miscanthus sinensis* on IgE-Mediated Biphasic Cutaneous Reaction in Mice. *Planta Medica* **64**, 12-17, 1998.
- 2) Tahara, E., Satoh, T., Watanabe, C., Shimada, Y., Itoh, T., Nagai, H., Terasawa, K., Saiki, I.: A Third-phase Cutaneous (Very Late Phase) Response after Elicitation with Dinitrofluorobenzene in Passively or Actively Sensitized Mice. *Allergology Int.* **48**, 265-273, 1999.
- 3) Yamada, T., Tahara, E., Nagai, H., Terasawa, K., Tani, T., Nunome, S., Saiki, I.: Effect of Some Kampo Medicines, Including Tokaku-Joki-To (Tao-He-Cheng-Qi-Tang), on IgE-mediated Triphasic Skin Reaction in Passively Sensitized Mice. *J. Trad. Med.* **17**, 17-25, 2000.
- 4) Shibata, T., Sugiyama, M.: Mao-Bushisaishin-To Ekisu oyobi sono koseisyoyaku no himansaibo karano hisutamin yuriyokuseisayo (Inhibitory Effects of Mao-Bushi-Saishin-To and the Composition of Crude Drugs on Histamine Release from Rat Mast Cells). *J. Trad. Med.* **6**, 288-289, 1989. (in Japanese)
- 5) Shibata, T., Matsumoto, H., Ishida, T., Sugiyama, M.: Mao-Bushi-Saishin-To ekisu oyobi sono koseisyoyaku no himansaibo karano hisutaminyuriyokuseisayo (II) — Mao ekisu ni tsuite — (Inhibitory Effects of Mao-Bushi-Saishin-To and the Composition of the Crude Drugs on Histamine Release from Rat Mast Cells (II) — On the Extract of Ephedrae Herba —) *J. Trad. Med.* **7**, 318-319, 1990. (in Japanese)
- 6) Matsumoto, T., Baba, K., Ogino, S., Ishida, M., Shibata, T.: Inhibitory Effect of Orally Administered Mao-Bushi-Saishin-To, Sho-Saiko-To on Histamine Release from Rat Mast Cells. *J. Trad. Med.* **12**, 398-399, 1995.
- 7) Shibata, H., Minami, E., Nunoura, Y., Nabe, T., Kono, S.: Effect of Mao-Bushi-Saishin-To (MBST) on Experimental Inflammation Models in Rats. *J. Trad. Med.* **14**, 454-455, 1997.
- 8) Ikeda, Y., Oyama, T., Taki, M., Suzuki, Y., Noguchi, M., Omiya, Y., Goto, K., Komatsu, Y.: Antinociceptive Effect of Mao-Bushi-Saishin-To in Mice and Rats. *J. Trad. Med.* **13**, 81-86, 1996.
- 9) Takeuchi, Y., Nishimura, Y., Saiga, Y., Kimura, Y.: Syo-Seiryu-To no koarerugi sayo — tokuni kisei koarerugizai tonon hikaku ni tsuite — (Anti-allergic Effects of Syo-Seiryu-To — Especially about the comparison of Syo-Seiryu-To with Ready-made Anti-allergic Medicines —). *J. Trad. Med.* **2**, 188-189, 1985. (in Japanese)
- 10) Sugiyama, K., Murakoshi, H., Watanabe, K., Shiozaki, T.: Significance of Polymer in Quality Control for Kampo Formulation (II). Relationship between the Effect of Xiao-Qing-Long-Tang against PCA and the Content of Polymer. *J. Trad. Med.* **11**, 458-459, 1994.
- 11) Tanaka, H., Takeda, H., Takaoka, Y., Inagaki, N., Nagai, H.: Effect of Sho-Sei-Ryu-To on the Late Phase Response of Experimental Allergic Skin Reaction in Mice and Rhinitis in Guinea Pigs. *J. Trad. Med.* **14**, 380-381, 1997.
- 12) Nagai, H., Takeda, H., Nishiyori, T., Ochi, T., Sawada, M., Kato, T., Inagaki, N., Morita, M., Komatsu, Y.: Effects of Sho-Seiryu-To (Xiao-Qing-Long-Tang) on Experimental Allergic Reactions. *J. Trad. Med.* **17**, 49-58, 2000.
- 13) Shiga, T., Komatsu, Y., Yuta, M., Hosotani, E.: Kakkon-To no arerugi ni taisuru sayo (Anti-allergic Effect of Kakkon-To). *J. Trad. Med.* **4**, 424-425, 1987. (in Japanese)
- 14) Shiga, T., Komatsu, Y., Hosoya, E.: Effect of Kakkon-To on the Active Arthus Reaction and the Delayed Type Hypersensitivity in Mice. *J. Trad. Med.* **5**, 41-45, 1988.
- 15) Matsuda, H., Moriura, T., Kubo, M.: Pharmacological Study on Kampo-hozai. III. Effect of Kakkon-To on Immune Responses. *J. Trad. Med.* **7**, 35-45, 1990.
- 16) Natsuaki, M., Abe, K., Kitano, Y.: Effect of Eppi-Ka-Jutsu-To on Murine Contact Dermatitis. *J. Trad. Med.* **13**, 386-387, 1996.
- 17) Koda, A., Katsuda, E., Watanabe, S., Mizuno, M.: Syoyaku no koarerugi sayo ni tsuite no ginmi (Anti-allergic Effects of Crude Drugs). *Jpn. J. Pharmacol.* **66**, 366-378, 1970. (in Japanese)
- 18) Kasahara, Y., Hikino, H.: Pharmacological Actions of Ephedra Internodes and Nodes. *Shoyakugaku Zasshi* **38**, 159-165, 1984.
- 19) Shimizu, H., Tsuchiya, K., Sakurai, H.: Superoxide Dismutase-like Activities of Kampo-formulations Possessing Analgesic and Anti-inflammatory Properties. *J. Trad. Med.* **7**, 54-60, 1990.
- 20) Eisen, H. N., Belman, S., Carsten, M. E.: The Reaction of 2,4-Dinitrobenzenesulfonic Acid with Free Amino Groups of Proteins. *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 4583-4585, 1953.
- 21) Tahara, E., Sato, T., Toriizuka, K., Nagai, H., Nunome, S., Shimada, Y., Ito, T., Terasawa, K., Saiki, I.: Effect of Shimotsu-To (a Kampo Medicine, Si-Wu-Tang) and its Constituents on Triphasic Skin Reaction in Passively Sensitized Mice. *J. Ethnopharmacol.* **68**, 219-228, 1999.

*577-8502 東大阪市小若江 3-4-1
近畿大学薬学部薬用資源学研究室 久保道徳