

# 漢方処方における「甘草」配合の意義に関する基礎的研究

～「甘草」配合漢方処方の胆汁酸誘発肝障害に及ぼす影響～

申請代表者	能勢 充彦	名城大学薬学部	教授
所外共同研究者	日坂 真輔	名城大学薬学部	助教
所内共同研究者	渡辺 志朗	臨床科学部門 臨床利用分野	准教授
〃	田中 謙	資源開発部門 生薬資源科学分野	准教授

## ■背景・目的

現在、厚生労働省承認漢方処方方は210処方(新210処方として処方数は295処方まで拡大中)を数え、我々の健康の維持・回復に活用されている。構成生薬の一つである「甘草」は、マメ科のウラルカンゾウの根およびストロンを用いるものであり、主成分としてグリチルリチンを含み、新210処方の約7割に配合されている。しかしながら、その配合の意義については現代科学的にまだ不明である。

古典によれば、甘草を寒涼薬と配合すると清熱の働きが、温熱薬と配合すると補気の働きが、作用の峻烈な薬物と同用するとその峻烈な作用が抑制されて毒性は穏やかになり、穏やかな作用を持つ薬物と同用するとその薬効が増強されるなど、諸薬を調和する役割があるとされる。また、その甘味から矯味剤としての役割も想像されるが、その意義はまだ科学的に確立されていない。

我々は、漢方方剤における「甘草の配合」の意義を分析化学的・薬理的に解析し、漢方方剤の適正使用、有害事象の軽減に寄与することを目指して研究を開始した。

甘草ならびに甘草の主成分であるグリチルリチンには、抗炎症作用をはじめ、副腎皮質刺激作用、コレステロール低下作用、胃粘膜保護作用、抗アレルギー作用、鎮咳・去痰作用などの多岐にわたる薬理作用があることが報告されている。とりわけその肝障害抑制作用や肝細胞保護作用の解析は進んでいる。さらに、このグリチルリチンは、漢方方剤を構成する成分の中で、オウゴンのバイカリンとともに非常に含有量の多い成分である。漢方方剤と言えど、含有される化合物が生体分子と相互作用した結果薬理作用を示し、古典で示されている薬能を発揮することは当然のことである。そこで、本研究課題では、「甘草」配合漢方方剤には、「甘草」に特有の作用が共通して認められるという作業仮説を立て、検討を開始した。

今回は、臨床的に頻繁に見られる胆汁うっ滞による肝障害モデルを用いて、これに対する種々の漢方処方における「甘草」および「グリチルリチン」の作用を検討することとした。

貴研究所臨床利用分野の渡辺志朗准教授は、胆汁酸をマウスに摂取させることで肝障害を誘導可能であることを報告し、さらにその発症機構についても胆汁酸代謝ならびに脂質代謝との関連から解明する研究を行っている。

本研究ではこの胆汁酸誘発性肝障害モデルを用いて、甘草配合方剤の有効性を評価するための共同研究を計画した。

## ■結果・考察

### (1) 甘草エキスおよび漢方方剤の調製ならびにグリチルリチン含量の定量

甘草は、厚生労働省承認漢方処方の中で1gから5g配合されている。そこで、被験薬物として選

出した甘草湯（甘草単味エキス）、小柴胡湯、芍薬甘草湯、大黄甘草湯をそれぞれ常法に則り調製した。グリチルリチン含量については、高速液体クロマトグラフィーを用い、標準品を用いて作成した検量線を基に定量を行った（Table.1）。

その結果、配合甘草 1g あたり約 40mg のグリチルリチンがヒト一日量には存在することが判明した。

Table 1. 被験漢方方剤中のグリチルリチン含量

Sample ID	Yield (g)	GR content (g)	GL(mg in extract)	GL(mg/g of GR)
甘草湯	1.82	5	198.4	39.7
小柴胡湯	8.03	2	72.2	36.1
芍薬甘草湯	2.43	4	148.9	37.2
大黄甘草湯	2.13	1	38.1	38.1

column : TSKgel-ODS 80Ts (4.6mm ID x 150mm), eluent : 0.005M TBA-MeOH = 50 : 50,  
flow rate : 1.0 ml/min, detection wavelength : 254 nm, oven temperature : 40°C

## (2) 甘草エキスおよびグリチルリチンの胆汁酸誘発肝障害モデルに対する作用

胆汁うっ滞による肝障害については、臨床的にはウルソや強力ネオミノファーゲン C による治療が行われ、さらにステロイド剤の適用も行われることがあるとされる。共同研究者の渡辺准教授が見出したモデルは、高脂肪食にコール酸を添加して雌性 ICR マウスに与えると脂肪肝ならびに肝障害を生じるものであり、とくに肝臓中にコレステロールエステルの高度蓄積を認め、肝臓中や血中のトリグリセリドは低値を示すという特徴をもつ。

まず、この胆汁酸誘発性肝障害モデルに対して、甘草エキス、グリチルリチンが脂肪肝の抑制や肝障害の軽減に作用するかどうか検討を行った。

実験動物として、雌性 ICR マウス 7 週齢を用い、通常飼料（CE-2、クレア）に 20% 牛脂と 0.4% コール酸を添加した餌で飼育を行った。飼育開始時より、甘草湯（甘草エキス）およびグリチルリチンを一日一回経口投与した。投与量については、(1) の定量結果を参考にし、グリチルリチン相当で 0.67mg/kg を低用量に、670mg/kg を高容量として検討した。4 週間後に、エーテル麻酔下開腹し、下行大静脈より採血を行った後、肝臓を摘出して各種パラメーターの測定を行った。

Fig.1 に示すように、実験期間中のマウスの体重変化には各群で有意な差異は認められず、また摂餌量についても同様に大きな変化は認められなかった (Fig.2)。対照として用いた通常飼料群に比べ、摂餌量は減少したものの添加食群の間で有意な差は認められなかった。

4 週間後の絶食時体重ならびに肝重量を Fig.3 に示す。体重においては群間に有意な差は認められないものの、肝重量および肝重量/体重比において通常飼料飼育群に比べ、胆汁酸添加飼料群では肝重量の増加が観察された。一方、甘草エキスおよびグリチルリチン投与群においては、統計学的な差異までは認められなかったものの、投与量依存的な肝重量の増加抑制が観察された。

肝障害の指標となる血清トランスアミナーゼ値については、胆汁酸添加食群において有意な上昇が観察され、グリチルリチンの高用量投与群で有意な上昇抑制が観察された (Fig.4)。とくに、AST

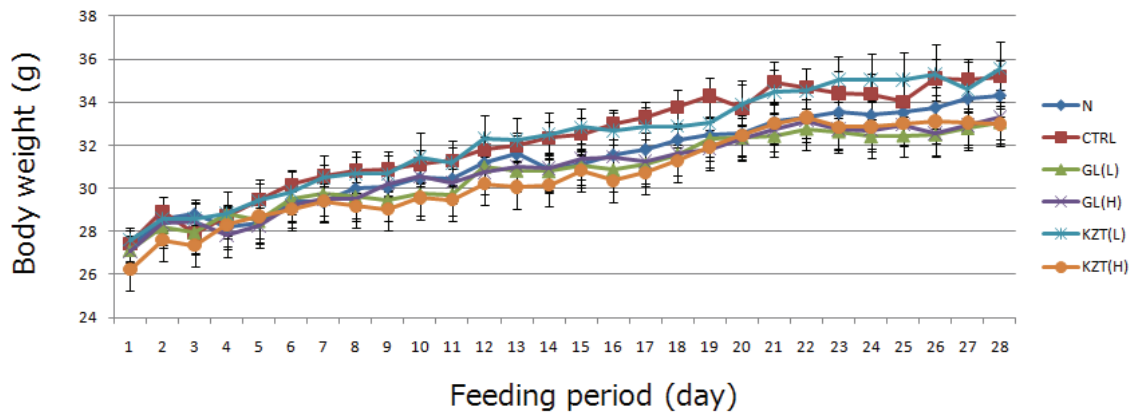


Fig.1 甘草エキスおよびグリチルリチンの胆汁酸誘発肝障害に対する作用（体重変化）

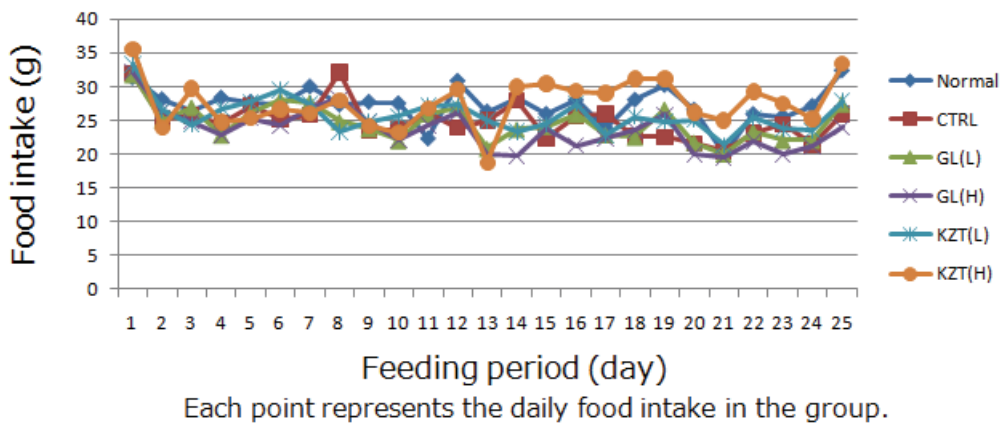


Fig.2 甘草エキスおよびグリチルリチンの胆汁酸誘発肝障害に対する作用（摂餌量変化）

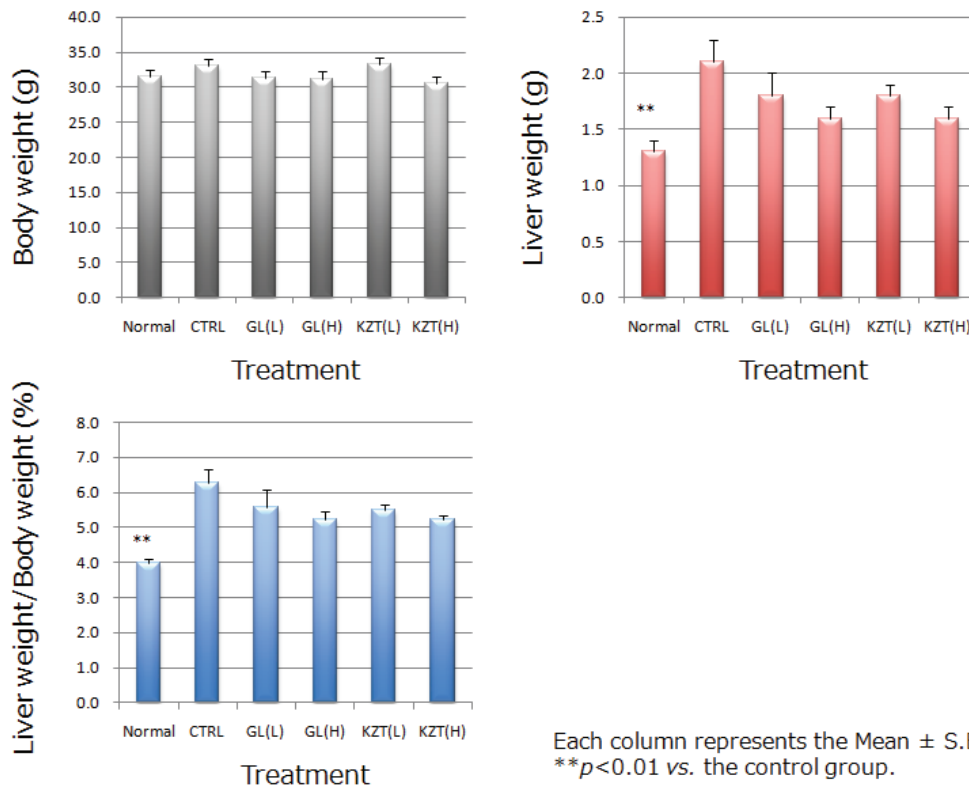
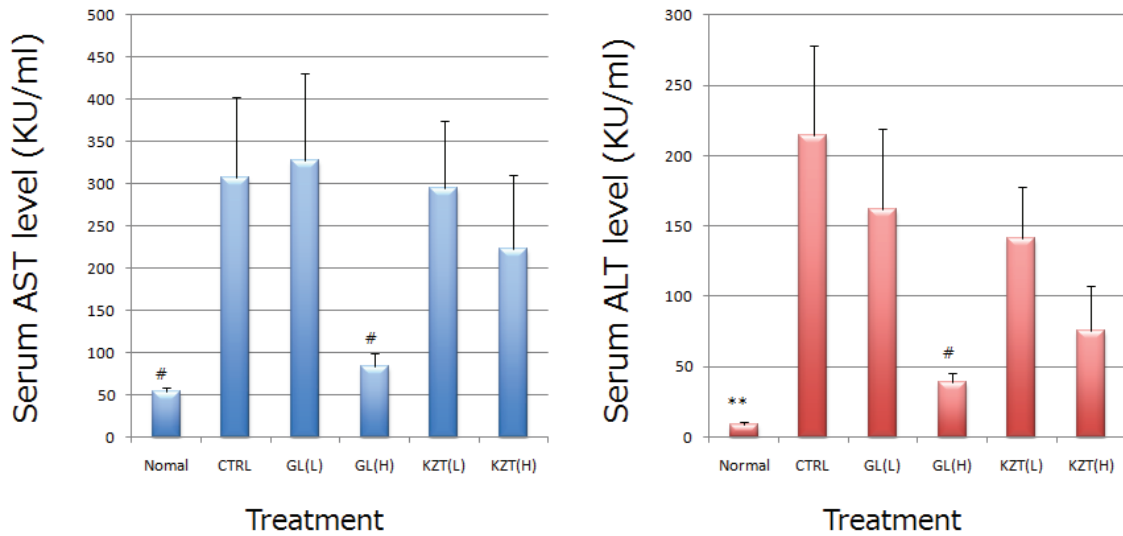
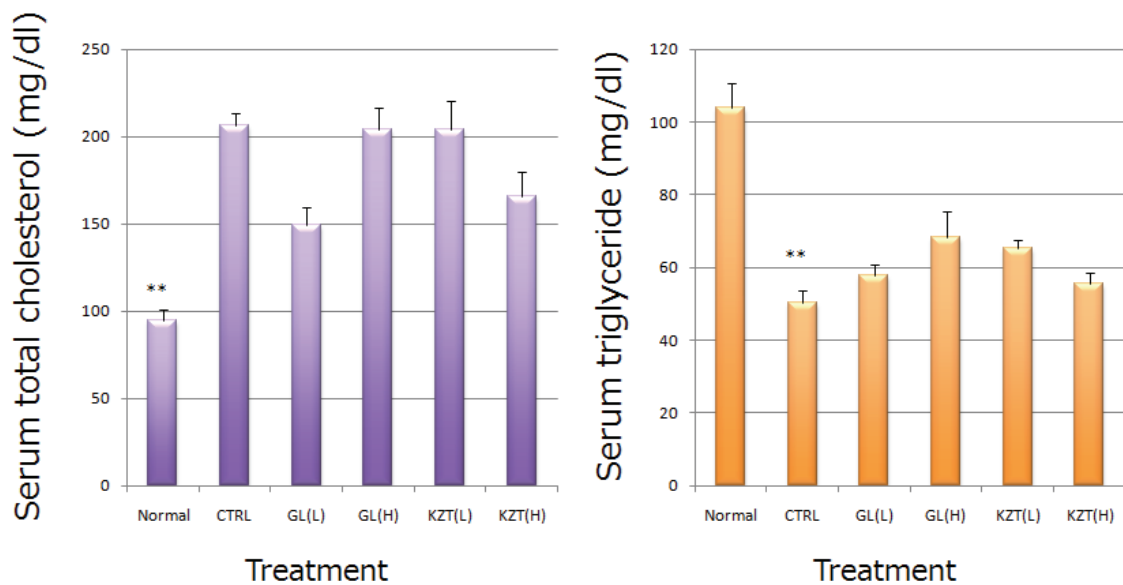


Fig.3 甘草エキスおよびグリチルリチンの胆汁酸誘発肝障害に対する作用（臓器重量）



Each column represents of the Mean  $\pm$  S.E.M. for 6 mice.  
 \*\* $p < 0.01$ , # $p < 0.1$  vs. the control group.

Fig.4 甘草エキスおよびグリチルリチンの胆汁酸誘発肝障害に対する作用（血清トランスアミナーゼ値）



Each column represents of the Mean  $\pm$  S.E.M. for 6 mice.  
 \*\* $p < 0.01$  vs. the control group.

Fig.5 甘草エキスおよびグリチルリチンの胆汁酸誘発肝障害に対する作用（血清脂質）

値においてはバラツキが多いものの、グリチルリチン投与群、甘草エキス投与群ともに用量依存的な抑制作用が観察され、胆汁うっ滞型の肝障害にグリチルリチン製剤が有用とされてきた臨床成績の裏付けとなる結果となったと考えている。

一方、血清脂質に関しては、胆汁酸添加食群で有意な血清総コレステロール値の上昇ならびにトリグリセリド値の減少が観察されたが、甘草エキスおよびグリチルリチン投与による大きな変化は認め

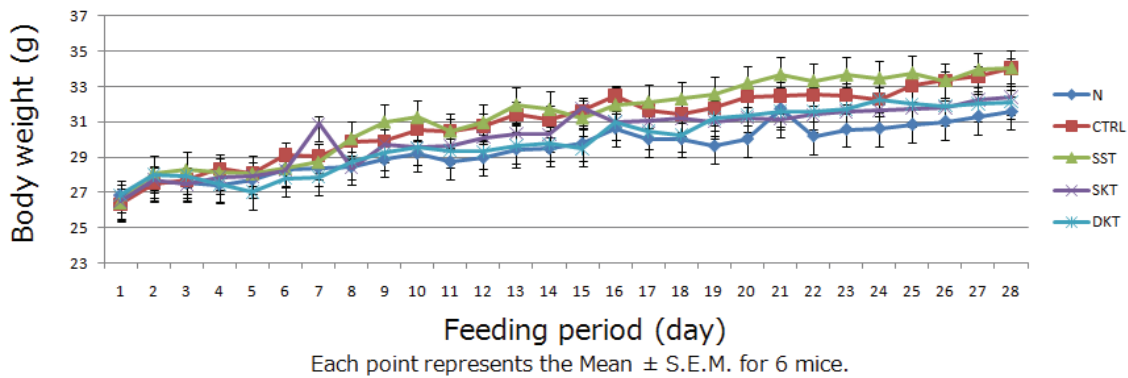


Fig.6 甘草配合漢方方剤の胆汁酸誘発肝障害に対する作用 (体重変化)

られなかった (Fig.5)。グリチルリチン投与群においては、低用量で血清総コレステロール値の上昇抑制を示した一方で、負の用量依存性を示した。また、甘草エキス投与群では用量依存的な上昇抑制、減少抑制傾向が観察されたが、有意なものではなかった。さらに、肝組織における脂質分析を行ったところ、各群で有意な変化は認められず、コレステロールエステルの増加が観察された (data not shown)。

以上の結果は、甘草エキスよりもグリチルリチンが本モデルではよりよく肝障害を抑制することを示唆するものであり、その詳細については更に検討する必要がある。Gumprich らは、ラットの初代培養肝細胞を用いた系で、胆汁酸による肝細胞毒性 (necrosis および apoptosis) に対してグリチルリチンのアグリコンであるグリチルレチン酸が抑制作用を示すことを報告している (J.B.C., (2005))。彼らは、その作用メカニズムとしてグリチルレチン酸の示す抗酸化活性が寄与することを推定しており、本研究におけるグリチルリチン投与と甘草エキスとしての投与による結果の相違を、血中グリチルレチン酸濃度測定などによって解釈可能かどうか、まず検証する必要があると考えている。

### (3) 甘草配合漢方方剤の胆汁酸誘発肝障害モデルに対する作用

(2) の実験により、グリチルリチンの経口投与で胆汁酸誘発肝障害が軽減されることが明らかとなったので、「甘草」配合漢方方剤について検討を行った。研究計画書においては、「甘草」の配合があり、方格の異なる処方が望ましいと考え、小柴胡湯、桂枝湯、人参湯、桃核承気湯、芍薬甘草湯を候補漢方方剤として選択する旨記載していたが、よりシンプルな処方の方が比較しやすいとして、小柴胡湯、芍薬甘草湯、大黃甘草湯の三種類をもって本年度の被験薬剤とした。

(2) の実験と同様に、実験動物として雌性 ICR マウスを用い、胆汁酸添加飼料により 4 週間飼育を行った。飼育開始時より、対照群には水を、さらに各漢方方剤投与群にはヒト常用量の 10 倍量をそれぞれ一日一回経口投与した。

Fig.6, 7 に示すように、実験期間を通して群間に体重変化および摂餌量には有意な差は認められなかった。また、肝重量は対照群で先と同様に増加したものの、各漢方方剤投与群では平均値として若干低値を示しただけで有意な変化ではなかった (Fig.8)。



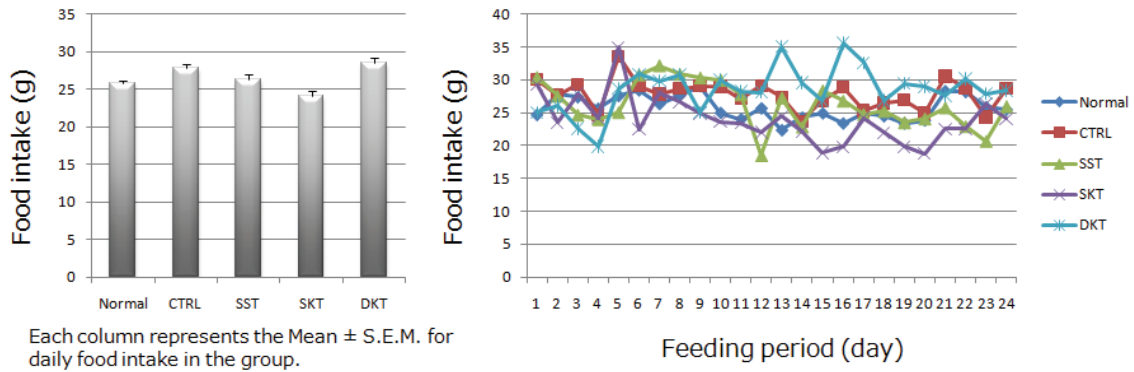
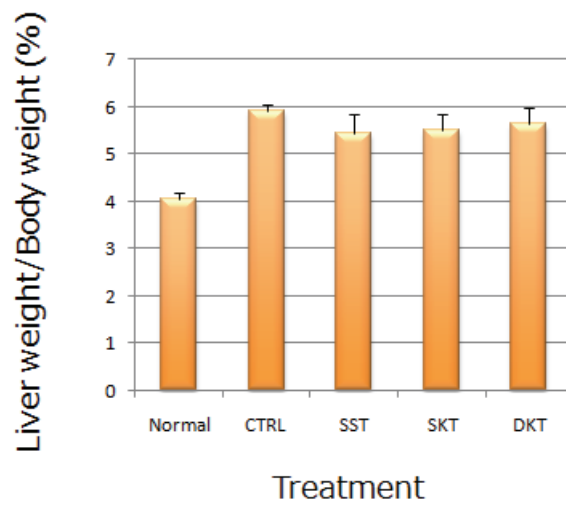


Fig.7 甘草配合漢方方剤の胆汁酸誘発肝障害に対する作用（摂餌量変化）



Each column represents of the Mean  $\pm$  S.E.M. for 6 mice.  
\*\* $p < 0.01$  vs. the control group.

Fig.8 甘草配合漢方方剤の胆汁酸誘発肝障害に対する作用（臓器重量）

さらに、血清トランスアミナーゼ値の測定により、今回も肝細胞障害が生じていることが確認されたが、個体差が大きく、漢方方剤の抑制作用を確認するには至らなかった (Fig.9)。しかしながら、AST, ALT とともに平均値を比較すると、芍薬甘草湯 > 小柴胡湯 > 大黄甘草湯の順に上昇抑制が観察され、それはそのまま「甘草」の配合量（比）に並行した結果であり、これらの漢方方剤の胆汁酸誘発肝障害抑制効果に「甘草」が寄与していることをうかがわせる結果であると考えている。

今後、実験系をブラッシュアップし、バラツキを抑えて検討することで、明確な答えを得たいと考えている。

これまでに、甘草の漢方処方への配合の意義を明らかにしようとする試みがわずかではあるものの報告されている。Miyawakiら(和漢医薬学会誌(1993))やYagiら(*J.Trad.Med.*,(2001))の研究グループが大黄甘草湯における甘草の作用を検討したものが該当し、それぞれ甘草が大黄の瀉下作用を増強するという結果を報告している。古典の解釈においては、甘草は大黄の瀉下作用を緩和するために配合されたとするものもあるが、大黄：甘草 = 4：1の比率においては甘草が瀉下作用を増強するとい

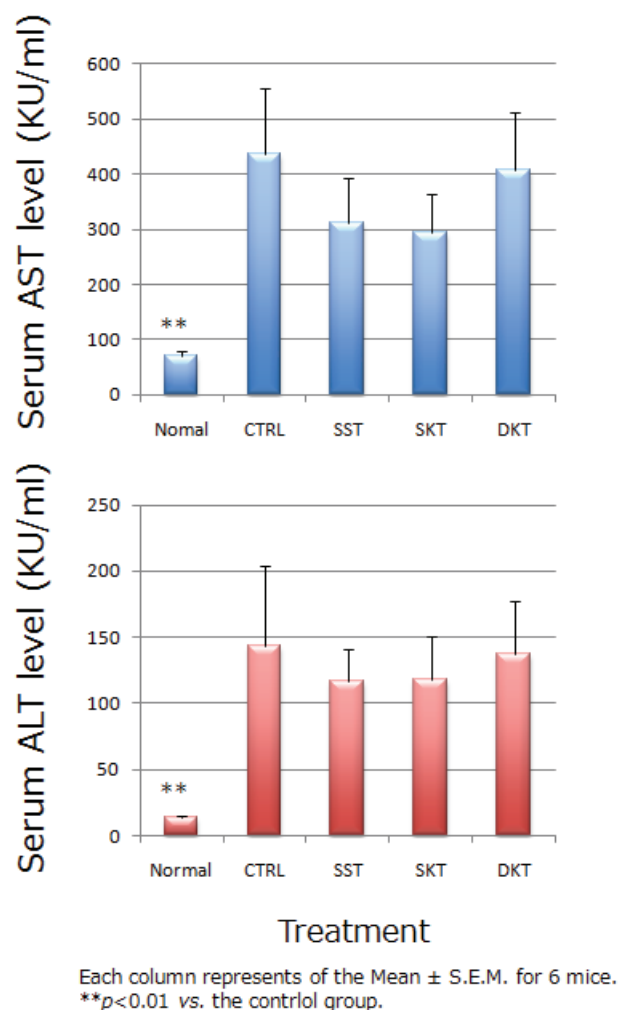


Fig.9 甘草配合漢方剤の胆汁酸誘発肝障害に対する作用（血清トランアミナーゼ値）

う実験データは興味深い。これらの検討は、ラットを未知いた検討であるため、大黄による瀉下作用に伴う「痛み」について甘草が緩和に働いたのかどうか不明であるが、「甘草」の漢方処方における配合の意義を解明しようとした研究として非常に参考になるものである。

我々も継続して検討を重ねて行きたいと考えている。

## ■結論

・マウスを用いた胆汁酸誘発肝障害モデルにおいて、グリチルリチンは経口投与で肝障害の抑制作用を示すことが明らかとなった。この結果は、臨床において胆汁うっ滞型の肝障害に強力ネオミノファーゲンC（静脈内投与製剤）だけでなく、経口投与剤も応用可能であることを示唆している。

・甘草配合漢方方剤では、バラツキが大きく、残念ながら作業仮説に対して明確な回答は得られなかったものの、血清トランスアミナーゼ値や肝重量比において、配合甘草量（比）に応じた抑制傾向が観察されており、検討した漢方方剤の示す胆汁酸誘発肝障害モデルの症状の軽減に「甘草」が十分関与している可能性が示唆されたと考えている。