

医学と薬学  
50巻3号・2003年9月  
50(3) : 329-334, 2003

各種エゾウコギ抽出物の  
強制遊泳マウスにおける抗疲労効果

愛媛大学医学部医化学第2教室

木村善行・住吉真帆

医学と薬学 別刷 Vol. 50 No. 3 2003

*Japanese Journal of Medicine and Pharmaceutical Science* (Jpn J Med Pharm Sci)

---

自然科学社  
Tel 03-3234-4121

## 各種エゾウコギ抽出物の 強制遊泳マウスにおける抗疲労効果

愛媛大学医学部医化学第2教室

木村善行・住吉真帆

### 序 言

現在、わが国の食生活は欧米化し、肥満症、高脂血症、動脈硬化症、高血圧症などの生活習慣病の罹患患者数が年々増加している。これらの疾病の増加と相まって、現在の多様化した社会での競争することが最優先とされている環境によって絶えずストレスに曝され、肉体的・精神的な疲労を訴えている人たちが増加している。このようにストレスを長期間受けることは、健康面においても多大な影響をもたらす、特に、疲労の蓄積は、食生活と相互に関連し合っており、免疫力の低下とともに生活習慣病を増悪させ、ウイルスなどによるインフルエンザなどの感染症や癌に罹患する患者が増加することが予測される。このように、疲労蓄積時の免疫機能がストレス暴露によって低下することは報告されているが、実験的なエビデンスは少ない。

エゾウコギはウコギ科 (*Araliaceae*) の *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Et Maxim.) Harms を基源植物として、中国では「五加皮(刺五加)」と称され、ロシアでは「エレウテロコック」と称され、シベリア、中国の東北地方、朝鮮半島、



図1 重修政和經史 證類備用本草<sup>1)</sup>

北海道の北見、足寄、帯広に自生している。中国の「神農本草経」<sup>1)</sup>の木部上品に「五加皮」が収載され、「主心腹疝氣腹痛益氣」と記載され、名医別録<sup>2)</sup>には「男子陰萎囊下濕小便……女人

Anti-fatiguing effects of various *Acanthopanax cortex* extract in stress mice induced by forced swimming  
Yoshiyuki Kimura, Maho Sumiyoshi Second Department of Medical Biochemistry, School of Medicine,  
Ehime University

**Key words :** *Acanthopanax senticosus*, stress, forced swimming, corticosterone, anti-fatiguing effect

陰痒及腰痛兩脚疼痛……補中益精堅筋骨強志意久服輕身耐老」と記載され、現在もその用途として、強壯、利水、鎮痛薬として、リウマチ、神経痛などの腰膝疼痛、脚気、インポテンツなどに使用されている。「五加皮」配合処方として、「五加皮丸」、「五加皮飲」などがある。證類備用本草に記載されている「五加皮」の植物図(図1)および宋代の蜀本注<sup>1)</sup>の「云樹生小叢赤蔓莖間有刺五葉生……」や宋代の図經本草<sup>2)</sup>の「五加皮生漢中……今江淮湖南州郡皆有之春生苗莖葉俱青作叢赤樹又似藤蔓高三五尺上有黑刺葉生五……」の記載から、ウコギ科の *Acatthopanax* 属植物が基源である。

現在、中国ではエゾウコギは「刺五加」として市場に出ている<sup>3)</sup>。また、エゾウコギはソ連(現在のロシア)では朝鮮人参(*Panax ginseng*)以上の強壯作用を有することが報告され、わが国では、北海道において古くからアイヌの民間伝承薬として使用されてきた<sup>4)</sup>。強制拘束などのストレス負荷によって血漿中コルチコステロン値の上昇やナチュラル・キラー(NK)活性の低下が報告されている<sup>4)5)</sup>。

今回、市販の各種エゾウコギ抽出物の抗疲労作用の薬理学的品質評価を検討するために、遊泳時間に及ぼす影響を検討した。また、強制遊泳ストレスによる血漿中コルチコステロンおよびNK活性に及ぼす影響も併せて検討した。

## 1. 材料および方法

### 1. 材 料

4種類の市販のエゾウコギ抽出物は日本粉末薬品(株)から提供を受けた。各被験体は1,000 mgを蒸留水10 mLに懸濁し、マウス体重10 gあたり0.1 mLを10日間、朝1回(7:00)経口投与(1 g/kg体重)した。無処置群(正常群)および強制遊泳負荷マウス群(コントロール群)は蒸留水のみを前記と同じスケジュールで投与した。

### 2. 使用動物

C57BL/6J系マウス(5週齢、雄性)1群7匹から14匹を1週間予備飼育した後、健康なマウ

スを実験に供した。

### 3. 強制遊泳実験方法

被験体および蒸留水を各マウスに投与し、3日目に被験体投与30分後に強制遊泳させ、遊泳時間を測定した。同様に、5日目、7日目および9日目に被験体投与30分後に強制遊泳を行い、遊泳時間を測定した。その遊泳時間を測定することによって、疲労防止および疲労回復作用の効果を判定した。

### 4. 強制遊泳マウスにおける血漿中コルチコステロンの測定

被験体を9日間投与後、10日目に各マウスを屠殺し、血液は下大静脈からヘパリン採血し、血漿を得た。分離した血漿中のコルチコステロンはcorticosterone [<sup>125</sup>I] assay系(Amersham Bioscience社製)を用いたradio immuno assay (RIA)によって測定した。

### 5. 強制遊泳マウスからの脾臓リンパ球の分離

被験体を9日間投与後、10日目に各マウスを屠殺し、無菌的に脾臓を摘出し、血液は下大静脈からヘパリン採血し、血漿を得た。無菌的に摘出した脾臓から、脾臓リンパ球を分離し、リンパ球数を $4 \times 10^5$ 細胞数/mLに調整した。この脾臓リンパ球をNK活性のエフェクター細胞とした。

### 6. NK活性測定におけるターゲット細胞(YAC-1)の調整および蛍光標識

YAC-1細胞(NK感受性細胞)は理化学研究所(つくば市)から分与していただき、愛媛大学医学部医化学第2教室において、継代維持したものをを用いた。YAC-1細胞の蛍光標識は、 $1 \times 10^5$ 個/mLのYAC-1細胞に3  $\mu$ M BCECF-AM(蛍光標識剤)を添加し、30分間37°Cでインキュベーションし、インキュベーション終了後、10%ウシ血清含有RPMI-1640で3回洗浄し、余分なBCECF-AM溶液を除去した。

### 7. 強制遊泳ストレス負荷マウスのNK活性の測定

9日目の強制遊泳負荷後の各マウスから調整した脾臓リンパ球( $4 \times 10^5$ 細胞数/mL)の100

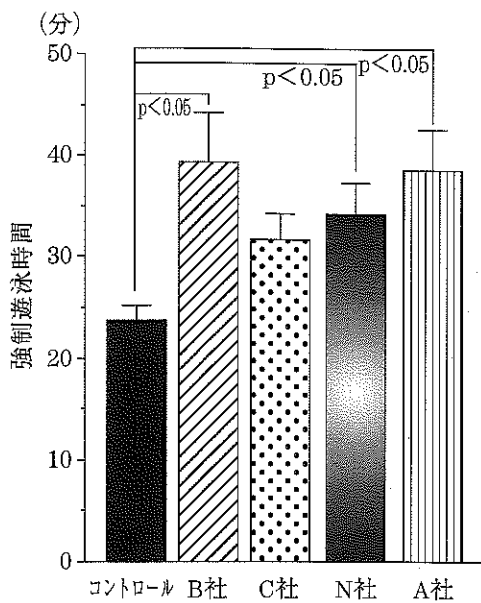


図2 各種エゾウコギ抽出物投与3日目の強制遊泳時間に及ぼす影響

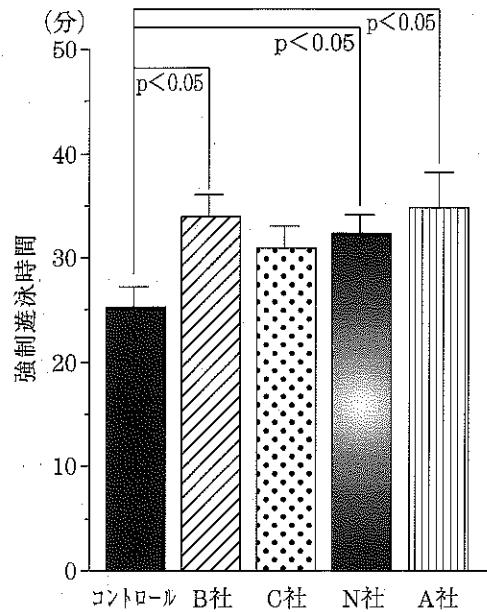


図3 各種エゾウコギ抽出物投与5日目の強制遊泳時間に及ぼす影響

μLを丸底96穴プレート(Falcon社製)に播種し,さらにBCECF標識YAC-1細胞( $1 \times 10^4$ 細胞数/mL)100 μLを加え,2時間混合培養した。培養後,遠心し,上清中に遊離してきた蛍光物質(BCECF)を励起波長500 nm, 蛍光波長540 nmで蛍光強度を測定した。YAC-1細胞内の全蛍光強度は0.25% Triton X-100で溶解し,算出した。NK活性は,以下の式で求めた。

[(マウス脾臓リンパ球で処理したYAC-1細胞からの遊離蛍光強度-未処置のYAC-1細胞からの自然遊離蛍光強度) ÷ (YAC-1細胞からの全蛍光強度-未処置のYAC-1細胞からの自然遊離蛍光強度)] × 100  
で算出した。

### 8. 統計処理

Super ANOVAソフトを用いて, Fisher's Protected LSD testによる多重群間検定を行い,  $p < 0.05$ を有意とした。

## II. 実験結果

### 1. 強制遊泳時間に及ぼす市販の各種エゾウコギ抽出物の影響

a) 市販の各種エゾウコギ抽出物投与3日目の強制遊泳時間に及ぼす影響

図2に示すように,投与3日目の強制遊泳時間は非投与群(コントロール群)においては約25分間の遊泳時間で,C社製品を除くB社,N社およびA社がコントロール群に比較して有意に遊泳時間を延長させた。

b) 市販の各種エゾウコギ抽出物投与5日目の強制遊泳時間に及ぼす影響

強制遊泳実験において,投与5日目の強制遊泳時間は,コントロール群が3日目と同様に約25分間で,各種エゾウコギ投与3日目と同様に,C社以外のB社,N社およびA社がコントロール群に比較して有意に遊泳時間を延長させた(図3)。

c) 市販の各種エゾウコギ抽出物投与7日目の強制遊泳時間に及ぼす影響

投与7日目の強制遊泳時間は,コントロール群は約32分間で,わずかに3日目および5日目

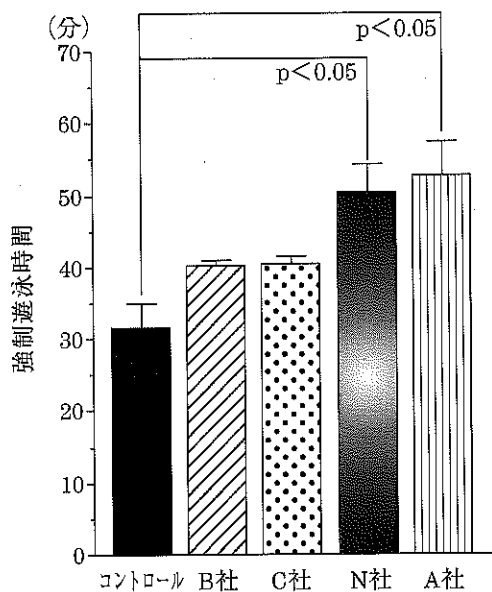


図4 各種エゾウコギ抽出物投与7日目の強制遊泳時間に及ぼす影響

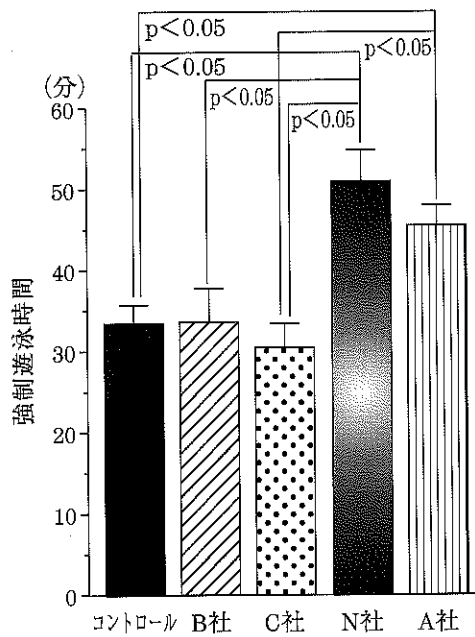


図5 各種エゾウコギ抽出物投与9日目の強制遊泳時間に及ぼす影響

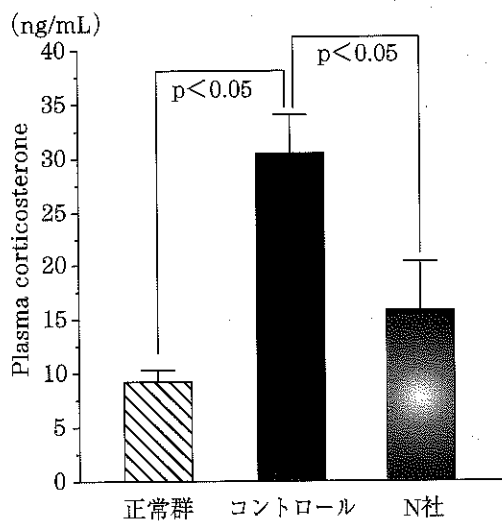


図6 強制遊泳マウスにおける各種エゾウコギ抽出物投与10日間後の血漿中コルチコステロン値に及ぼす影響

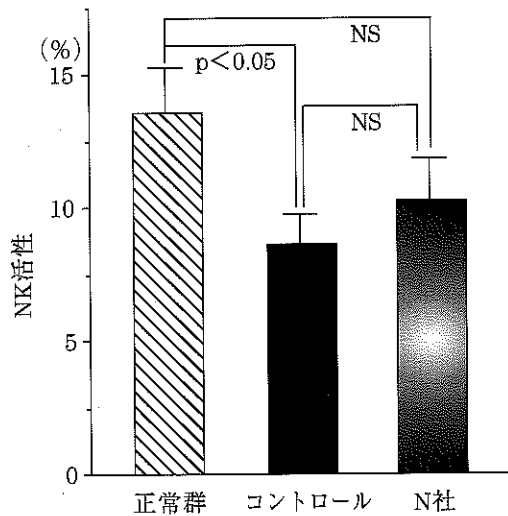


図7 強制遊泳マウスにおける各種エゾウコギ抽出物投与10日間後のナチュラル・キラー (NK) 活性に及ぼす影響

に比較して遊泳時間が延長した。N社およびA社がコントロール群と比較して有意に遊泳時間を延長し、抗疲労作用を示したが、B社およびC社はコントロール群と比較して有意差は認められなかった(図4)。

d) 市販の各種エゾウコギ抽出物投与9日目の強制遊泳時間に及ぼす影響

投与9日目の強制遊泳実験において、コントロール群の遊泳時間は約33分間で、7日目の遊泳時間とほぼ同じであった。N社およびA社のエゾウコギ製品がコントロール群と比較して有意に遊泳時間を延長し、明らかな抗疲労作用を

示した。N社は51分間、A社は45分間であった。一方、B社およびC社のエゾウコギ抽出物投与群はコントロール群との間に遊泳時間において、有意な差異は認められなかった(図5)。

強制遊泳実験における抗疲労作用に対する4種類の市販のエゾウコギ抽出物の検討において、N社製品が最も強い抗疲労作用を示し、次いで、A社であった。そこで、最も強く抗疲労作用の認められたN社製品について、強制遊泳ストレス時における血漿中コルチコステロン値に及ぼす影響を検討した。

### 2. 強制遊泳負荷後の血漿中コルチコステロン値に及ぼすエゾウコギ抽出物の影響

図6に示すように、強制遊泳負荷後の血漿中コルチコステロン値は、正常マウスと比較して、有意に血漿中コルチコステロン値の上昇が認められた。この事実は、強制遊泳によってストレスが引き起こされたことを示している。この遊泳ストレス負荷による血漿中コルチコステロン値の上昇は、N社のエゾウコギ抽出物の経口投与(1g/kg体重)によって、コントロール群と比較して、有意に正常群の活性レベルまで回復した。

また、ストレスによって免疫機能、特にNK活性が低下することがよく知られているが、その科学的なエビデンスがほとんどない。したがって、抗疲労作用および血漿中コルチコステロンの上昇を抑制したN社のエゾウコギ抽出物について、NK活性に及ぼす影響を検討した。

### 3. 強制遊泳負荷後のNK活性に及ぼすエゾウコギ抽出物の影響

図7に示すように、強制遊泳負荷後のNK活性は、正常マウスと比較して、有意にNK活性の低下が認められた。この事実は、強制遊泳ストレスによる免疫機能低下を示している。この強制遊泳ストレス負荷によるNK活性の低下に関して、N社製品はコントロール群および正常群との間にNK活性値に有意な差異は認められなかったものの、コントロール群よりもわずかにNK活性の回復が認められる傾向を示した。

表1 各社エゾウコギ抽出物中のエレウテロシドE, エレウテロシドBおよびイソフラキシジンの含有量(%)

	エレウテロシドE	エレウテロシドB	イソフラキシジン
A社	1.54	0.32	0.044
B社	1.08	0.048	0.001
C社	0.03	0.26	0.007
N社	0.86	0.51	0.080

## III. 考 察

以上の実験結果から、コントロール群は強制遊泳時間が短いのに、NK活性が低下し、さらに血漿中コルチコステロン値が上昇し、強いストレスを受けていることが判明した。今回、検討した4種類のエゾウコギ抽出物のうち、強制遊泳実験において、最も強い抗疲労作用を示したのはN社のエゾウコギ抽出物であった。そのN社製品は強制遊泳下のストレス暴露による血漿中コルチコステロン値の上昇を抑制し、NK活性の低下を抑制する傾向を示した。

表1に示すように、エゾウコギ抽出物の品質評価成分の指標として、エレウテロシドBおよびE, イソフラキシジンの含有量が測定されている。今回使用した4種類の市販のエゾウコギ抽出物を比較すると、A社はエレウテロシドEが最も多く含有し(1.54%)、次いで、B社の1.08%、N社の0.86%で、C社は最も少なかった。エレウテロシドBの含有量を比較すると、N社のエゾウコギ抽出物が最も多く0.51%で、次いで、A社の0.32%、C社の0.26%で、B社が最も少なかった。イソフラキシジンの含有量もN社が多く、次いでA社で、B社およびC社は微量であった。抗疲労効果の認められたN社およびA社のエゾウコギ抽出物は、エレウテロシド類およびイソフラキシジンがバランス良く含有されていることが判明した。以上の実験結果から、エゾウコギ中の抗疲労作用成分として、

エレウテロシド類やイソフラキシジンの可能性を示唆している。

謝辞 市販の各種のエゾウコギ抽出物を提供していただきました日本粉末薬品(株)に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 唐 慎微 撰：重修政和經史 證類備用本草，五加皮；卷12 木部上品，pp 301-302，人民衛生出版社影印，北京，中国，1957.
- 2) 中華人民共和國藥典(2000年版)(國家藥典委員會

編)，一部：五加皮，p 48，化学工業出版社，北京，中国，2000.

- 3) 山岸 喬：北国の秘薬 エゾウコギ，ハート出版，東京，1996.
- 4) Flint MS, Tinkle SS : C57BL/6 mice are resistant to acute restraint modulation of cutaneous hypersensitivity. *Toxicolog Sciences* **62** : 250-256, 2001.
- 5) Ishihara Y, Iijima H, Yagi Y et al : Enhanced recovery of NK cell activity in mice under restraint stress by the administration of a biological response modifier derived from the mycelia of the basidiomycete *Tricholoma matsutake*. *Stress* **6** : 141-148, 2003.

\* \* \*

